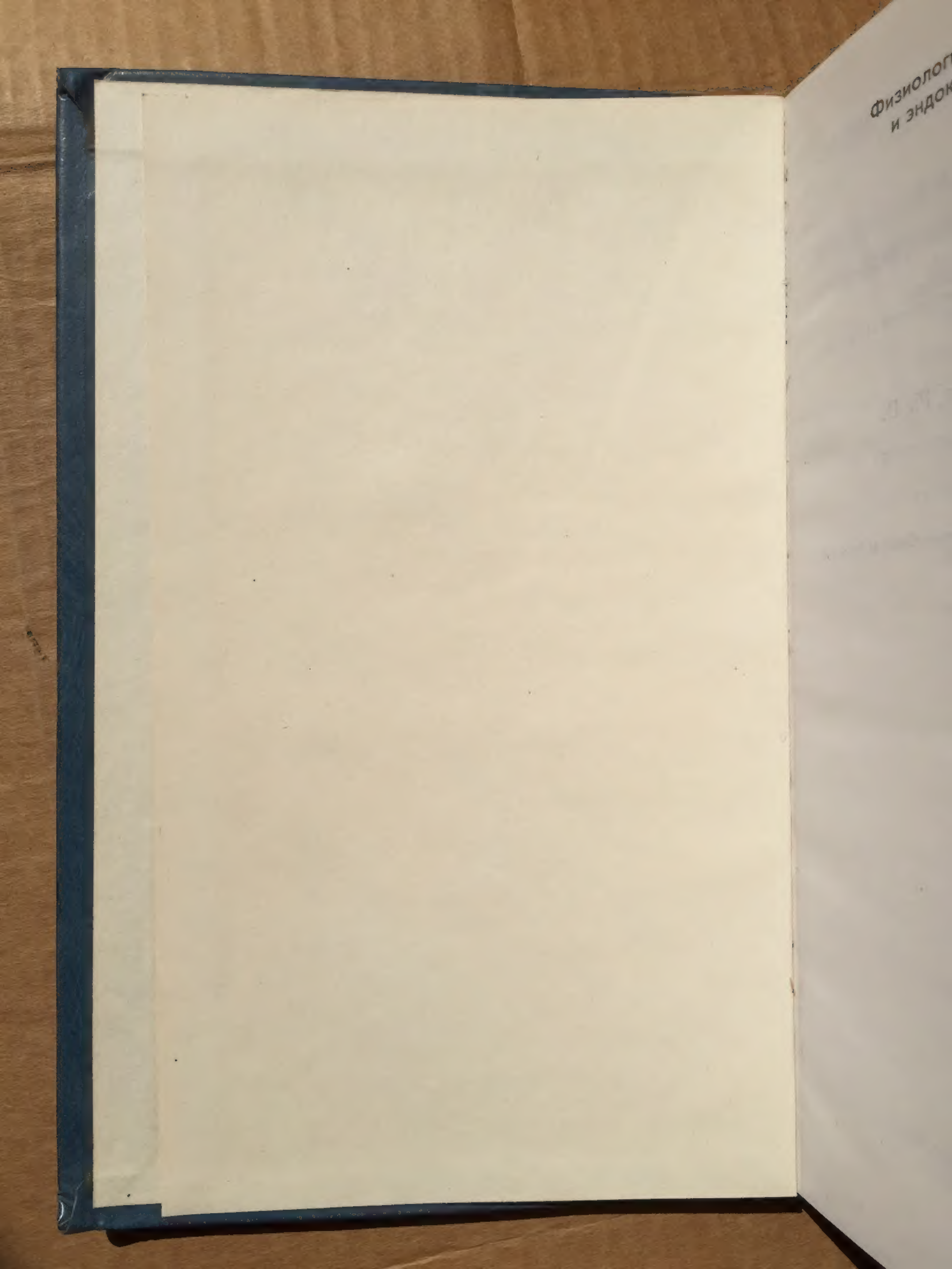
Дж. Теппермен, Х. Теппермен

Физиология обмена веществ и эндокринной системы



Издательство «Мир»



Физиология обмена веществ и эндокринной системы

METABOLIC AND ENDOCRINE PHYSIOLOGY
AN INTRODUCTORY TEXT

Jay Tepperman, M. D.

Emeritus Professor of Experimental Medicine

Department of Pharmacology
State University of New York Health Sciences Center at Syracuse
Syracuse, New York

Helen M. Tepperman, Ph. D.

Emeritus Professor of Pharmacology

Department of Pharmacology

State University of New York Health Sciences Center at Syracuse
Syracuse, New York

Fifth Edition

Year Book Medical Publishers, Inc.
Chicago · London

Дж. Теппермен, Х. Теппермен

ФИЗИОЛОГИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

Вводный курс

Перевод с английского
д-ра мед. наук
В. И. КАНДРОРА

Под редакцией
д-ра мед. наук
Я. И. АЖИПЫ



Москва «Мир» 1989

Список замеченных опечаток

Напечатано	Следует читать
Рис. 1—2. Компекс	Комплекс
Рис. 2—1. Соединение лидирующей и терминальной последовательностей	Присоединение лидирующей и терминальной последовательностей
Рис. 2—2 1872 п. н.	1872 н.
Рис. 8—3 Н-У-антигены	Н-У-антиген
Рис. 10—4 ТПГ+рецептор	ТРГ+рецептор
Рис. 10—7 $гT_3$	$рT_3$
Рис. 10—8 Концентрация цитохромоксидазы	Активность цитохромоксидазы
Рис. 14—8 Гипотезия	Гипотензия
Рис. 16—1 Умеренной	Умеренное

ББК 28.07
Т34
УДК 612.015.3

Теппермен Дж., Теппермен Х.

Т34 Физиология обмена веществ и эндокринной системы. Вводный курс: Пер. с англ. — М.: Мир, 1989. — 656 с., ил.

ISBN 5-03-000548-X

Книга американских авторов представляет собой учебное пособие по физиологии эндокринной системы. Рассмотрены как общие вопросы функционирования желез внутренней секреции и механизма действия гормонов, так и специальные: нейроэндокринология, эндокринология размножения, гормоны надпочечников, щитовидной и поджелудочной желез, регуляция энергетического и кальциевого обмена. Особое внимание уделено клиническим аспектам.

Для физиологов, биохимиков, эндокринологов, студентов-медиков и биологов.

Т $\frac{1901000000-130}{041(01)-90}$ 99—90 **ББК 28.07**

Редакция литературы по биологии

ISBN 5-03-000548-X (русск.)
ISBN 0-81518-757-2 (англ.)

© 1962, 1968, 1973, 1980 and 1987 by Year Book Medical Publishers, Inc.
© перевод на русский язык, Кандрор В. И., 1989

Оглавление

Часть IV. ЭНДОКРИНОЛОГИЯ РАЗМНОЖЕНИЯ

Часть V. ЩИТОВИДНАЯ ЖЕЛЕЗА

Часть VI. НАДПОЧЕЧНИКИ

Часть VIII. ОБМЕН КАЛЬЦИЯ

От переводчика

Настоящая монография, выдержавшая в США пять изданий, представляет собой одну из наиболее удачных на сегодня сводок современных знаний и представлений в такой бурно развивающейся области, как эндокринология. Быстрый прогресс этой науки связан с осознанием первостепенной важности процессов регуляции и интеграции биохимических и физиологических функций клеток и всего организма. Естественно, что выяснение принципов и механизмов регуляторных воздействий неотделимо от анализа самих объектов регуляции, начиная с процессов, протекающих на субклеточном уровне, и кончая поведенческими аспектами жизнедеятельности особи. Именно это определяет, очевидно, невозможность изложения эндокринологии отдельно от описания фундаментальных процессов метаболизма и важнейших физиологических функций. Поэтому авторы книги рассчитывают на определенную эрудицию читателя в области биохимии и физиологии.

Ценной особенностью данной монографии является ее дидактическая направленность. Иными словами, она может рассматриваться как учебное пособие для студентов биологических факультетов и медицинских институтов. В то же время такая направленность не привела к чрезмерному упрощению излагаемого материала, и монография должна быть полезна не только студентам, но и профессионалам.

Один из недостатков современного преподавания эндокринологии (в частности, в медицинских институтах) — разрыв в изложении ее фундаментальных и прикладных аспектов, что не может не нарушать целостности восприятия предмета и порождает иллюзию, что можно стать специалистом-эндокринологом без прочного усвоения теоретических основ данной науки. Настоящая монография — пример преодоления указанного недостатка. Не вдаваясь в сугубо клинические аспекты эндокринологии, авторы в то же время приводят яркие иллюстрации практического использования фундаментальных данных. Такой подход обеспечивает интерес монографии и для огромной армии практических врачей. Не менее важно и то обстоятельство, что авторы постоянно подчеркивают взаимопроникновение раз-

личных биологических дисциплин и, в частности, значение эндокринологических фактов и понятий для развития всех сторон биологической науки.

Отечественная литература сравнительно бедна такого рода монографиями. Получившее известность учебное пособие — «Основы эндокринологии» В. Б. Розена (недавно вышедшее вторым изданием) — по необходимости ограничено задачами преподавания на биологических факультетах университетов, а ряд руководств по клинической эндокринологии лишь поверхностно касается фундаментальных аспектов данной науки. С этой точки зрения умение авторов настоящей монографии «втиснуть» сложный и разнородный материал в относительно узкие рамки и изложить его доступным образом делают эту книгу особенно ценной.

В. И. Кандрор

Предисловие к первому изданию

Давно прошли времена, когда начинающему студенту можно было сказать: «Вот те физиологические факты, которые вы должны знать, чтобы стать врачом». В наши дни любая попытка изложить даже отдельную область физиологии не может обойтись без произвольности в отборе материала, неизбежных акцентов, окрашенных личным опытом и пристрастиями автора, а также профессионального риска задеть интересы коллег и сотрудников. Однако все это не может служить оправданием симпатий и антипатий в науке, и я при написании обзора по физиологии эндокринной системы старался быть совершенно независимым. Все же мне хотелось бы показать читателю трудности, встречающиеся на этом пути.

Прежде всего, подготовка или (говоря на преподавательском жаргоне) «податливость» наших студентов очень различна. Мне приходилось встречать студентов, прослушавших прекрасные курсы по эндокринологии, но тем не менее железы внутренней секреции оставались для них белым пятном. Разные студенты будут по-разному использовать полученную информацию: одни стремятся стать специалистами в эндокринологии и посвятят свою жизнь ее изучению и преподаванию, другие же отдадут предпочтение тем областям медицины, которые они умудряются не связывать с метаболизмом (хотя трудно понять, как им это удается). Между этими крайностями лежит весь спектр медицинских профессий — от терапии и гинекологии до психиатрии, где эндокринологические факторы и концепции не просто полезны, но имеют решающее значение для диагностики заболевания и лечения больного.

Исходные различия в подготовке слушателей и их планах на будущее создают определенные трудности, а если добавить сюда еще и сам характер преподаваемой науки, то эти трудности многократно возрастают. Неспециалист в эндокринологии едва ли представляет себе, с какой скоростью накапливаются новые знания в этой науке. В этом смысле данную книгу можно сравнить с запаздывающей стрельбой по быстро движущейся мишени.

Затем нужно учитывать и личный взгляд автора на то, что современно в эндокринологии, и стремление передать его как бы единой, недифференцированной аудитории. (При этом я был бы рад, если бы и мои коллеги — исследователи и преподаватели, — читая эту книгу, тоже находили для себя что-нибудь новое.) Некоторые студенты могут встретить в этом курсе большее, чем им хотелось бы знать. Другие, напротив, многого не найдут, и для них я включил в книгу основные ссылки (главным образом на монографии, труды симпозиумов и современные обзоры), с помощью которых можно найти путь к оригинальным публикациям. Я по возможности старался подчеркнуть важность физиологических представлений для клиники, так как считаю, что практически применяемые данные не менее привлекательны, чем те, которые еще не нашли подобного применения. Это не означает, что я не буду касаться представлений, пока не используемых в практической медицине или здравоохранении, или избегать обсуждения некоторых теорий и гипотез. На мой взгляд, фантазии и предположения в физиологии имеют существенное значение и не могут принести вреда, если их четко отграничить от фактического материала. Хорошие рано или поздно найдут экспериментальное подтверждение, а плохие — не найдут его и будут отброшены.

Приступая к чтению этой книги, читатель должен иметь определенные знания в области морфологии и эмбриологии эндокринных желез и ориентироваться в общих вопросах углеводного, жирового и белкового обмена. Я не пытался подробно излагать материал, который легко можно найти в любом обычном руководстве по гистологии или биохимии.

Описание собственных экспериментов для иллюстрации того или иного положения вовсе не означает, что они как-то по-особому важны или оригинальны, а отражает бóльшую доступность материала для автора. Понятно, что для обоснования выдвигаемых в тексте положений можно использовать лишь очень небольшое количество конкретных наблюдений. Попытка расширить изложение таких данных повредила бы как читателю, так и самим этим данным. В необходимых случаях я старался приводить примеры, используя весь спектр биологических исследований — от молекулярных до эпидемиологических.

Существует два широко распространенных способа схематического изображения эндокринной системы: один из них представляет эндокринные органы, почки, желудочно-кишечный тракт и т. д. в более или менее правдоподобном виде, соответствующем их анатомическому строению («школа Джиблета»); другой изображает такие структуры в виде «черных ящиков», как это делают инженеры («школа Мондрианеска»). Многие из приведенных здесь рисунков выполнены вторым спосо-

бом; они либо служат отправной точкой для обсуждения, либо суммируют материал. Цифры в кружочках соответствуют номерам подразделов текста. На этих диаграммах указаны анатомические структуры и гормоны, а также некоторые взаимодействия между ними.

Нельзя усвоить предмет, не имея определенных знаний об истории его развития. Когда в лекциях я пытался касаться истории обсуждаемых проблем, то сталкивался с определенным сопротивлением части слушателей, нетерпеливо стремившихся к ответам на более актуальные для экзаменов вопросы, чем вопрос о собаках Минковского. Объем данной книги не позволял дать подробный исторический анализ предмета, но все же я не мог излагать его без указаний на то, что интеллектуальное здание физиологии в течение многих лет строилось упорными и преданными науке людьми, перед которыми мы находимся в неоплатном долгу. Поэтому в начале большинства глав я привожу таблицы, в которых вкратце освещается история вопроса. Это не только малая дань предшественникам в нашей профессии, но и прекрасная иллюстрация взаимного обмена информацией между клиницистами и экспериментаторами — обмена, который многое давал в прошлом и обещает еще больше в будущем.

Благодарности

Несомненно, что этот труд не мог бы быть завершен без помощи моей жены, д-ра Хелен Теппермен. Она не только преподавала мне материал, изложенный в главах 5 и 11, и помогала в сборе и оценке множества источников информации для всех других глав, но и проверяла каждое слово этой книги во всех трех ее черновиках, критикуя доброжелательно, но твердо, и сделала много важных предложений, улучшивших окончательный вариант.

Я благодарен также д-ру Альфреду Фара — руководителю отдела, в котором я работаю, за поддержку и помощь во многих отношениях. Я обращался за помощью и всегда получал ее от Д. Тепли, Р. Барнетта, Дж. Сойерса, М. Карновски, Дж. Костио, Г. Расмуссена, Р. Хейнеса, Д. Саббатини, Д. Стритена, М. Вурхеса, Л. Гарднера, А. Мозеса и Л. Райца.

Я особенно признателен Н. Апгеру и Дж. Хэммок за тот труд и искусство, с которыми они подготовили иллюстрации, и Ш. Мартин за превосходную секретарскую помощь. Благодарю также издателей за их доброжелательное сотрудничество.

Джей Теппермен, доктор медицины

Предисловие к пятому изданию

Когда 26 лет назад один из нас (Дж. Т.) участвовал в переговорах с Дж. Комро, Р. Питтсом, А. Бартоном, Г. Дэвенпортом и Ф. Роджерсом из издательства Year Book's о планировании серии монографий по физиологии, он и представить себе не мог, что кого-то сможет заинтересовать публикация *пятого* издания *«Физиологии обмена веществ и эндокринной системы»*. Из собравшихся тогда авторов этой серии книг в настоящее время жив только Хорейс Дэвенпорт, наш большой и добрый друг с 1940 г. По случаю нового издания мы со светлой печалью вспомнили и остальных: Комро — неповторимо остроумного и мудрого ученого, исследователя, преподавателя и руководителя; Бартона, который был мягким, странноватым и необыкновенно образованным человеком, приверженцем традиций Старого Света, и Питтса, хотя и не столь склонного к юмору, как многие другие, но ученого-поэта, который даже в почечных канальцах находил предмет вдохновения. Ко всем им мы мысленно обращались со словами привета и прощания.

Авторы этой книги, недавно прекратившие свою преподавательскую и исследовательскую деятельность, имели возможность воочию наблюдать за поразительным развитием современной эндокринологии в общей сложности в течение 98 лет. Когда мы поступали в аспирантуру (Дж. Т. в 1934 г., а Х. М. Т. в 1938 г.), эндокринология только-только достигла «респектабельного» положения среди наук, и общественное сознание перестало связывать ее в основном с великанами, карликами и бородатыми женщинами в цирке. Инсулин был открыт только в 1921 г., на первый план выступало гигантское здание биохимии стероидов, и прошло еще 20 лет, прежде чем кто-либо услышал о структуре пептидных гормонов и ДНК. Мощная финансовая поддержка медико-биологических исследований в 50-е и 60-е годы обусловила экспоненциальный рост знаний в эндокринологии и многих других областях. Мы со своими коллегами действовали подобно самозванному греческому хору, комментирующему события, когда пытались уследить за новыми

достижениями. За 39 лет преподавания мы способствовали приобщению к эндокринологии более 4000 студентов-медиков и многих ученых, получивших степень.

Кто-то однажды сказал, что вся работа Микеланджело сводилась к тому, чтобы найти глыбу мрамора и отколоть от нее все, что не было Давидом или Моисеем. Микеланджело обладал большим преимуществом, поскольку заранее знал, как должны выглядеть Давид и Моисей. В нашем же случае глыба мрамора была очень большой, но отсутствовала уверенность, что мы (или кто-либо другой) сумеем изваять из нее нечто, в равной степени приемлемое для студентов и их преподавателей. Имея в виду огромную нагрузку, налагаемую на наших студентов преподавателями других дисциплин, мы старались облегчить свой курс, но в то же время, зная современных студентов, мы не могли отнестись к ним слишком снисходительно. Как и в прошлых изданиях, мы придерживались разговорного стиля и всюду, где можно, старались подчеркнуть историческую преемственность идей.

В процессе работы над переизданием мы собирали текущую литературу, относящуюся к каждой главе, перечитывали то, что было написано нами раньше, и либо оставляли, либо переписывали фрагменты четвертого издания в соответствии с тем, как считали нужным. В любом случае мы заново отредактировали бóльшую часть старого текста и добавили много нового материала. Глава, посвященная циклическому АМФ, в корне переработана: в ней подробно изложена концепция множественности вторых посредников, включая кальций-кальмодулин, а также кругооборот полифосфатидилинозитола. В главу о простагландинах включено больше сведений о лейкотриенах. Пересмотрены все разделы, посвященные нейроэндокринологии, и включены данные о новых гипоталамических гормонах — КРФ, СТГ-РФ и ПИФ. Практически во всех главах нашли отражение новые сведения о механизмах действия гормонов. Когда стало известно, что Браун и Гольдстейн удостоены Нобелевской премии за 1985 г., мы написали новую главу (гл. 15) о липопротеинах и транспорте липидов, ликвидировав имевшийся пробел.

Эта книга адресована студентам, которые уже прослушали курсы анатомии, гистологии (включая ультраструктуру) и биохимии, но не патологии, иммунологии или клинической медицины. Хотя предварительные курсы весьма желательны, но опыт одного из нас (Дж. Т.), проводившего индивидуальные занятия с соискателями ученой степени, показал, что добросовестный студент, даже не имея подготовки по анатомии или гистологии, при наличии хорошего словаря может многое извлечь из этой книги.

Эта книга *не* является руководством по клинической эндокринологии. Краткие упоминания эндокринных заболеваний и других клинических вопросов должны лишь показать, что здесь, как и в большинстве других областей современной медицины, результаты фундаментальных биохимических и физиологических исследований находят быстрое и широкое применение.

Множество старых рисунков было заменено на новые с учетом последних данных, и, кроме того, нам пришлось значительно увеличить их число. Поэтому мы крайне признательны Э. Карбон за помощь. Мы благодарны также изобретателю ксерографии Ч. Карлсону и всем неизвестным нам людям, сделавшим возможным использование домашнего компьютера. Без них подготовка нового издания оказалась бы совершенно невозможной.

Мы с удовольствием отмечаем более чем четвертьвековое сотрудничество с издательством Year Book Medical Publishers и благодарим наших чикагских друзей за внимание и интерес к изданию и оформлению книги.

Джей Теппермен
Хелен М. Теппермен

Нашим детям (и внукам)
Джин (Кэролайн и Саре)
Кэти (Элизабет и Саре)
Джиму (Сэму)

Часть I

ВВЕДЕНИЕ

Глава 1

Механизмы действия гормонов. Обзор

Многоклеточный организм не мог бы долго существовать без системы внутренних коммуникаций, по которой из одной его части в другую передаются необходимые сообщения. У животных имеются две главные коммуникационные системы: 1) *нервная система* со всеми ее разветвлениями, аналогичная сложной телеграфной сети, с помощью проводов соединяющей источник информации с местом ее получения и действия; и 2) *эндокринная система* (точнее, рыхло связанная группа подсистем), которая использует кровообращение для передачи информации в форме высокоспециализированных химических веществ, называемых гормонами; эта система является «беспроволочной». Гормоны узнаются клетками-мишенями, которые уже заранее запрограммированы процессами дифференцировки на прием гормонального сигнала и заданную стереотипную реакцию на него. Нервная и эндокринная системы вместе обеспечивают «постоянство внутренней среды», о котором с замечательным предвидением писал Клод Бернар примерно 100 лет назад. К параметрам внутренней среды, за постоянством которых бдительно следят как «проволочная», так и «беспроволочная» коммуникационные системы организма, относятся концентрации растворенных в крови веществ, артериальное давление и кровоток. Говорим ли мы о регуляции уровня глюкозы в сыворотке крови или содержании в ней свободных жирных кислот и кальция или о регуляции артериального давления, мы неизменно имеем дело с равновесными состояниями, при которых силы, направленные на повышение и снижение величины изучаемого параметра, точно сбалансированы, что и обеспечивает его устойчивость. Факторы, увеличивающие тот или иной параметр (X), приводят в действие соответствующие нервные и эндокринные клетки, которые восстанавливают равновесие. Снижение X возбуждает другие «сторожевые» клетки, и их активность компенсирует этот сдвиг. История физиологии от Клода Бернара через Кеннона и до сегодняшнего дня, когда физиологические механизмы регуляции часто описываются в понятиях компьютерных про-

грамм, представляет собой в основном все более и более усложняющееся понимание этого принципа. Видное место среди «сторожевых» клеток, способствующих поддержанию постоянства внутренней среды, занимают те, которые синтезируют и секретируют гормоны, — клетки эндокринных желез.

Первоначально нейробиология и эндокринология изучались специалистами, не видевшими особой связи между этими дисциплинами. Может быть, самый большой успех в истории обеих наук за последние годы — это понимание их тесного взаимодействия и функциональной взаимозависимости. Как мы увидим, рефлекторная дуга может включать нервное афферентное и эндокринное эфферентное звенья (см. гл. 5). Действительно, в связи с недавно обнаруженным присутствием морфиноподобных пептидов в гипофизе и центральной нервной системе даже теорию боли можно представить себе с позиций Клода Бернара, т. е. как равновесное состояние между болевыми и антиболевыми сигналами; в какую бы сторону ни сдвинулось это равновесие, сразу же появится сила, действующая в противоположном направлении. Выявление в центральной нервной системе большого числа пептидов, многие из которых были давно известны как гормоны желудочно-кишечного тракта, безусловно поставило перед нейробиологами и эндокринологами параллельные проблемы и породило общие интересы.

Подобно нейробиологии, эндокринология занимается проблемой коммуникаций, и в частности, теми молекулами-информаторами, которые распознаются дискриминаторами на поверхности чувствительных клеток или внутри их и посредством сложных молекулярных механизмов вызывают клеточный ответ. Эта ответная реакция в большинстве случаев физиологически полезна для организма в целом. Однако, когда гормон продуцируется в чрезмерных количествах, например при гипертиреозе или опухолях эндокринных желез, ответ может быть и вредным, даже разрушительным. Вся остальная часть данной книги посвящена описанию самих химических сигналов, а также клеток, посылающих и принимающих эти сигналы.

История эндокринологии

Эндокринология уходит своими корнями в трактаты врачей и философов глубокой древности. Упоминания о заболевании, скорее всего сахарном диабете, содержатся в египетских папирусах 1500 г. до н. э. Зоб и эффекты кастрации животных и человека принадлежат к первым клиническим описаниям болезней, эндокринная природа которых была доказана впоследствии. Старые клинические описания эндокринных заболеваний были сделаны не только на Западе, но и в древнем Китае и Индии.

Если расположить значительные открытия во многих областях эндокринологии по времени, то полученная картина отразит в миниатюре историю всей биологии и медицины. После отрывочных клинических наблюдений, сделанных в древности и средневековье, эти науки прогрессировали крайне медленно. Во второй половине XIX в. произошел быстрый скачок в развитии многих областей медицины как в отношении качества клинических исследований, так и в понимании механизмов заболеваний. Этот процесс был обусловлен сложной взаимосвязью исторических причин.

Во-первых, промышленная революция привела к накоплению капиталов, которые были использованы для развития многих наук, главным образом химии. Так, расцвет органической химии в Германии был вызван потребностью текстильных мануфактур в красителях, а ряд наиболее выдающихся работ Пастера обязан своим появлением прогрессу виноделия во Франции. Поскольку эндокринология имеет дело со взаимодействием особых химических веществ, развитие химических и физических наук позволило описывать эндокринные механизмы в молекулярных понятиях.

Другая революция, свершившаяся во второй половине XIX в. и имевшая фундаментальное значение для развития не только эндокринологии, но и всей биологии и медицины, состояла в появлении экспериментального моделирования на животных. Клод Бернар и Оскар Минковский продемонстрировали возможность проведения контролируемых и воспроизводимых опытов в лабораторных условиях. Иными словами, была создана возможность «перекрестного допроса» природы. Без деятельности этих первооткрывателей мы были бы лишены большей части современных знаний в области эндокринологии. Изучение всех тех веществ, которые теперь называются гормонами, начиналось с опытов на целых животных (а часто и предшествовавших им наблюдений над больными людьми). Эти вещества именовались «веществом X» или «фактором ?». «Постулаты Коха» для эндокринологии предусматривали следующий порядок работы:

1. Удаление предполагаемой железы.
2. Описание биологических эффектов операции.
3. Введение экстракта железы.
4. Доказательство того, что введение экстракта ликвидирует симптомы отсутствия железы (п. 2).
5. Выделение, очистка и идентификация активного начала.

В период второй мировой войны в области эндокринологии было накоплено большое количество данных, многие из которых имели фундаментальное значение для последующего развития этой науки. После же войны в связи с появлением мно-

жества новых методик произошло вообще беспрецедентное ускорение темпа исследований. И в настоящее время в результате резкого притока технических и творческих сил количество публикаций как по эндокринологии, так и по всем другим аспектам медико-биологических знаний растет с впечатляющей быстротой. Это означает постоянное поступление новых данных, что требует периодического пересмотра старых представлений в их свете.

Поток информации и теоретических представлений между фундаментальными биологическими науками и эндокринологией не был односторонним; в очень многих случаях исследователи, работающие над эндокринологическими проблемами, вносили значительный вклад в теоретическую биологию. Пример тому показан на рис. 1-1.

Определение некоторых понятий

Гормоны обычно определяют как химические посредники, которые секретируются непосредственно в кровоток специализированными клетками, способными синтезировать и высвобождать гормоны в ответ на специфические сигналы. То или иное

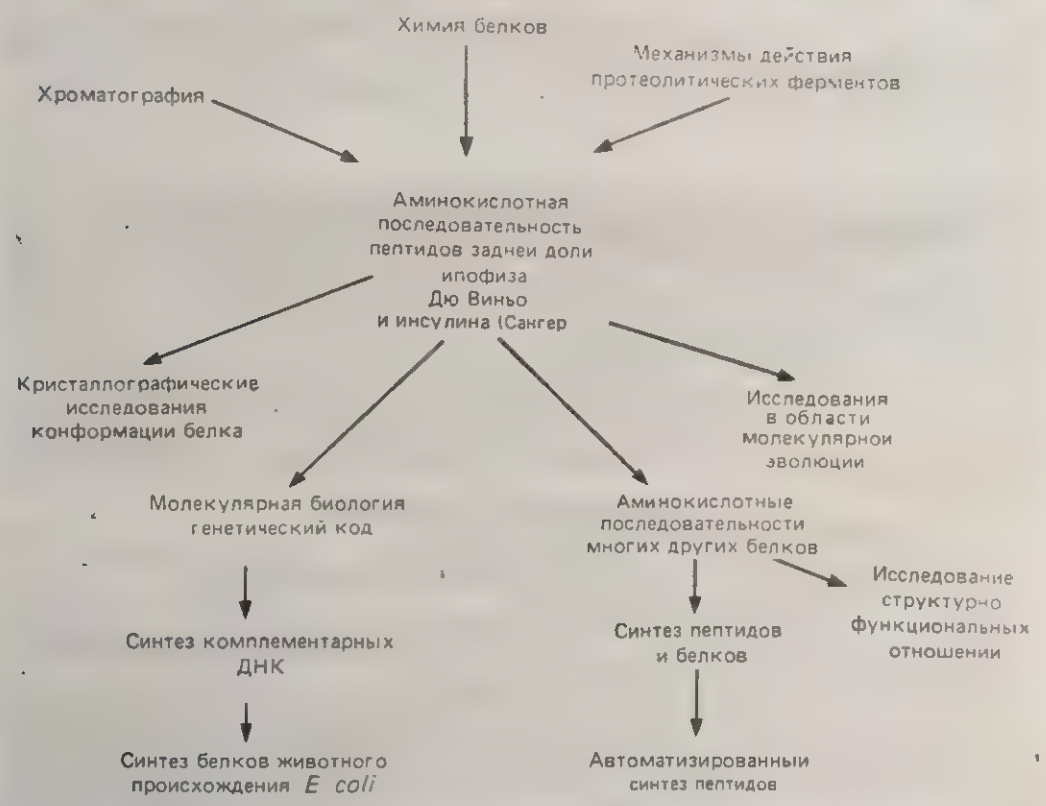


Рис. 1-1. Связь исследований гормонов с общей историей биологии.

количество клеток-мишеней обнаруживает гормон и отвечает определенным образом на его действие. Физиологические концентрации большинства гормонов колеблются в пределах 10^{-7}—10^{-12} М, т. е. они эффективны в крайне низких концентрациях. Часто гормоны характеризуют как вещества, действующие на отдаленные от места своей выработки мишени, к которым они приносятся кровью (*телекринный эффект*). В отличие от этого вещества, секретируемые одной клеткой и оказывающие биологический эффект путем местной диффузии, называют *паракринными*. Вещества, действующие на секретирующие их клетки, называют *аутокринными*.

Между этими понятиями трудно провести четкую грань, поскольку истинные гормоны, в частности гормоны гипоталамуса, до встречи со своими клетками-мишенями могут проходить очень короткий путь. Другие, подобно тестостерону и эстрогенам, обладают как телекринным, так и паракринным действием, поскольку известно, что они оказывают не только дистантные (через кровь), но и локальные эффекты вблизи вырабатывающих их клеток. Еще большую путаницу вносит тот факт, что по крайней мере один гормон — тестостерон — присутствует в высоких концентрациях и в семенных канальцах и в системе их эфферентных протоков, влияя, вероятно, на структуры, ответственные за транспорт и созревание сперматозоидов.

Кроме гормонов существует множество других химических веществ, играющих регуляторную или модуляторную роль в биологических процессах. *Нейромедиаторы,* главным образом ацетилхолин и катехоламины, синтезируются в нервных клетках и высвобождаются нервными окончаниями. Описаны и другие нейромедиаторы, к которым относятся серотонин, γ-аминомасляная кислота (ГАМК) и гистамин. Все они действуют на очень коротком расстоянии от места синтеза и, как правило, гораздо меньшее время, чем пептидные, белковые, стероидные и тиреоидные гормоны.

Важнейшее место среди химических веществ, действующих вблизи продуцирующих их клеток, занимают так называемые *аутокоиды.* К ним относятся гистамин, медленно реагирующее вещество анафилаксии (МРВ-А), брадикинин и многие другие вещества, образующиеся при воспалительной реакции. Позднее мы рассмотрим некоторые взаимоотношения гормонов с этими веществами.

Другая группа несущих информацию химических веществ выступает в роли агентов, «посланцев» или *«вторых посредников»* гормонов на внутриклеточном уровне. К ним относятся циклические нуклеотиды — циклический аденозинмонофосфат (цАМФ) и циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ), кальций и некоторые продукты гидролиза фосфолипидов, в частности

фосфорилированный фосфатидилинозитол. Примечательно, что действие гормонов на чувствительные клетки и нейромедиаторов на нейроны имеет общие черты и сходные биохимические механизмы. Подобно этому, реакции тучных клеток на различные стимулы и лимфоцитов на митогены сильно напоминают ответы некоторых чувствительных клеток на действие соответствующих гормонов.

С трудом поддается классификации и еще один вид соединений; вероятно, термин *«модуляторы»* действия гормонов и нейромедиаторов наилучшим образом соответствует эффектам группы веществ, называемых *простагландинами.* Эти «вездесущие» соединения рассматриваются в гл. 4. Наиболее характерная их черта заключается в том, что они часто синтезируются в ответ на гормональную и нейромедиаторную стимуляцию, в некоторых случаях усиливая, а в других — ослабляя гормональный эффект.

Все перечисленные регуляторные соединения чрезвычайно активны и действуют в очень низких концентрациях, но ими не исчерпываются «источники информации», получая которую клетки усиливают или прекращают свою деятельность. Определенные инструкции отдельным клеткам или их группам передаются с помощью *циркулирующих в крови субстратов* (например, глюкозы, свободных жирных кислот или других форм липидов, а также аминокислот). Не менее важно содержание в крови кальция, фосфора, натрия, калия, иода и других ионов. Гормон-чувствительные клетки существуют в сложном и постоянно меняющемся окружении субстратов и ионов, и их активность регулируется как гормональными, так и негормональными факторами.

Эволюция эндокринных систем

Гормоны, их прешественники и многие факторы, опосредующие или модулирующие действие гормонов (рецепторы, вторые посредники, простагландины и другие аналогичные вещества) обнаружены у бактерий, червей, насекомых, а также растений. Удивительно, что простейшие, грибы и *E. coli* содержат вещество, перекрестно реагирующее с антителами к инсулину и стимулирующее окисление глюкозы в изолированных жировых клетках. Функция этого вещества у *E. coli* неизвестна. Точно так же остается тайной, что делают морские кораллы со своими простагландинами.

Некоторые функции второго посредника гормонов — циклического АМФ — в примитивных организмах изучались весьма интенсивно. У слизевиков цАМФ служит главным агрегирующим фактором и выделяется в среду при недостатке питатель-

ных веществ. Аналогично, если *E. coli* лишается глюкозы, то цАМФ вызывает дерепрессию lac-оперона и клетка приобретает способность расщеплять галактозу.

Некоторые гормоны по мере усложнения оганизмов приобретают иные функции. У амфибий, например, пролактин играет важную роль в регуляции осмотического давления, тогда как у млекопитающих его основная функция заключается в регуляции лактации. Действие других гормонов на разные ткани одного и того же организма может быть различно. Так, например, ангиотензин в надпочечниках стимулирует продукцию альдостерона, а в центральной нервной системе играет важную роль в качестве регулятора жажды. Кроме того, антидиуретический и адренокортикотропный гормоны (АДГ и АКТГ) помимо действия на почки и соответственно надпочечники могут влиять и на поведенческие реакции.

Как правило, регуляторные молекулы возникают на эволюционной лестнице задолго до формирования метаболических процессов, которые они призваны регулировать. Как образно выразился Ф. Жакоб, природа ведет себя подобно предусмотрительному ремесленнику или мастеровому, держа в запасе молекулярные средства, которые приобретают новые регуляторные функции по мере возникновения новых и более сложных метаболических потребностей.

Интегративные функции гормонов

Эндокринные железы принимают участие во всех важных процессах жизнедеятельности организма.

Дифференцировка

У развивающегося эмбриона гормоны играют существенную организующую роль, которая наиболее очевидно проявляется в дифференцировке полового тракта (тестостерон) и центральной нервной системы (тироксин).

Размножение

Гормоны, как правило, необходимы для успешного становления репродуктивных функций. Оплодотворение, имплантация яйцеклетки, беременность и лактация — все эти процессы требуют участия многих гормонов, которые для особей мужского пола не менее важны, чем для особей женского. Одни и те же гормоны у представителей обоих полов регулируют комплементарные функции, т. е. дифференцировку и развитие сперматозоидов и яйцеклеток.

Рост и развитие

Гормоны необходимы для роста и развития созревающего организма. Оптимальный рост обусловливается совместным действием гормона роста, тиреоидных гормонов и инсулина, причем присутствие неадекватных количеств антагонистов инсулина или половых стероидов может тормозить рост.

Адаптация

Гормоны принимают важнейшее участие как в кратковременной, так и в долговременной адаптации к количеству и качеству потребляемой пищи. Они необходимы и для успешной адаптации к изменениям поступления жидкости и электролитов из окружающей среды.

Старение

Неумолимый процесс старения сопровождается снижением секреции половых гормонов у представителей обоих полов, хотя у особей женского пола это проявляется более отчетливо.

Классификация гормонов

Химическая характеристика гормонов началась с установления структуры катехоламинов (в начале XX в.). В 30-х годах наступил «золотой век» биохимии стероидов и была расшифрована структура половых гормонов. Немногим более чем за 10 лет удалось выяснить структуру эстрогенов, прогестерона, тестостерона, кортизола и надпочечниковых андрогенов.

Хотя основные данные о химии пептидов были получены до 1953 г., но именно в это время начались работы по установлению аминокислотной последовательности пептидов и белков. Основополагающими явились сообщения Дю Виньо (du Vineaud) и его школы о структуре пептидов задней доли гипофиза. Первым крупным пептидом, аминокислотную последовательность которого удалось выяснить, был инсулин. Пионерскую работу Сангера по инсулину можно считать краеугольным камнем не только эндокринологии, но и всех других областей биологической науки. По мере развития методов пептидной химии была выяснена структура всех пептидов и белков, перечисленных в табл. 1-1, причем многие из этих веществ были впоследствии синтезированы.

В табл. 1-1 перечислены также основные источники гормонов. Однако исследования по клеточной локализации многих гормонов показали, что такие пептиды, как АКТГ, гипоталами-

Таблица 1-1. Химическая классификация гормонов

Класс химических соединений	Гормон (сокращенное название)	Основной источник
Амины	Дофамин	ЦНС
	Норадреналин	ЦНС, мозговой слой надпочечников
	Адреналин	Мозговой слой надпочечников
	Мелатонин	Эпифиз
Иодтиронины	Тироксин (T_4)	Щитовидная железа
	Трииодтиронин (T_3)	Периферические ткани (щитовидная железа)
Небольшие пептиды	Вазопрессин (антидиуретический гормон, АДГ)	Задняя доля гипофиза
	Окситоцин	То же
	Меланоцитстимулирующий гормон (МСГ)	Промежуточная доля гипофиза
	Тиреотропин-рилизинг-гормон (ТРГ)	Гипоталамус, ЦНС
	Гонадотропин-рилизинг-гормон (ГнРГ, ЛГ-РГ)	Гипоталамус, ЦНС
	Соматостатин (СРИФ)	Гипоталамус, ЦНС, панкреатические островки
	Кортикотропин-рилизинг-гормон (КРГ)	Гипоталамус, ЦНС
	Соматокринин (СТГ-РГ, СТГ-РФ)	Островковые опухоли, гипоталамус, ЦНС
	Ангиотензины (AII, AIII)	Кровь (из предшественника), ЦНС
Белки	Инсулин	β-клетки, панкреатические островки
	Глюкагон	α-клетки, панкреатические островки
	Гормон роста, или соматотропин (ГР, СТГ)	Передняя доля гипофиза
	Плацентарный лактоген (ПЛ)	Плацента
	Пролактин (ПРЛ)	Передняя доля гипофиза
	Паратиреоидный гормон, или паратгормон (ПТГ)	Паращитовидные железы
	β-липотропин и энкефалин	Гипофиз, ЦНС
	Кальцитонин	К-клетки, щитовидная железа
	Адренокортикотропный гормон (АКТГ)	Передняя доля гипофиза
	Секретин	Желудочно-кишечный тракт, ЦНС
	Холецистокинин (ХЦК)	То же
	Гастрин	—»—
	Желудочный ингибиторный пептид (ЖИП)	Желудочно-кишечный тракт
Гликопротеины	Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ)	Передняя доля гипофиза
	Лютеинизирующий гормон (ЛГ)	То же

Продолжение

Класс химических соединений	Гормон (сокращенное название)	Основной источник
	Хорионический гонадотропин (ХГ)	Плацента
	Тиреотропный гормон (ТТГ)	Передняя доля гипофиза
Стероиды	Эстрогены ($Э_2$, $Э_3$)	Яичники, плацента
	Прогестерон (П)	Желтое тело, плацента
	Тестостерон (Т)	Семенники
	Дигидротестостерон (ДГТ)	Ткани, чувствительные к тестостерону
	Глюкокортикоиды	Кора надпочечников
	Альдостерон	—»—
	Метаболиты холекальциферола (вит. D)	Печень, почки

ческие рилизинг-гормоны (либерины), многие гормоны желудочно-кишечного тракта, ангиотензин, энкефалин, все гормоны задней доли гипофиза, встречаются и во внегипоталамических областях головного мозга. Эти данные удалось получить лишь после разработки высокочувствительного иммунофлуоресцентного метода, позволяющего избирательно метить и выявлять внутриклеточные гормоны с помощью специфических антител, ковалентно связанных с флуоресцирующими веществами. Хотя функция этих пептидов в ЦНС выяснена недостаточно, имеются убедительные доказательства их важной модуляторной роли в деятельности центральных нейронов. У вещества, отнесенного к классу гормонов, впоследствии могут быть обнаружены и какие-то иные функции.

Следует остановиться на особом классе гликопротеиновых гормонов, перечисленных в табл. 1-1. Эти вещества представляют собой димерные белки и содержат идентичную α-субъединицу. Расшифровка структуры гликопротеиновых гормонов оказалась особенно важной для разработки радиоиммунологических методов их определения, поскольку различать подобные гормоны удается только с помощью антител к их различным β-субъединицам.

Иногда химический принцип классификации бывает менее полезным, чем какой-либо иной, например по *вырабатывающим гормоны железам*. Клетки передней доли гипофиза вырабатывают не менее шести гормонов: пролактин (ПРЛ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), адренокортикотропин (АКТГ), тиреотропин (ТТГ) и гормон роста (ГР, или СТГ). Предполагается, что значитель-

…ое место среди гипофизарных гормонов занимает, кроме того, β-липотропин — предшественник эндогенных пептидов с морфиноподобной активностью.

Структурно близкие вещества *отдельных подгрупп* часто рассматриваются вместе, например катехоламины: дофамин, норадреналин и адреналин; или тиреоидные гормоны: тироксин (T_4) и трииодтиронин (T_3).

Некоторые гормоны регулируют определенные физиологические функции, и поэтому их удобно группировать именно *по функции*. Примерами могут служить вазопрессин (АДГ), альдостерон, ангиотензин и предсердные натриуретические факторы (ПНФ), которые все вместе участвуют в поддержании гомеостаза жидкости и электролитов. Подобно этому, гормоны, секретируемые клетками островков Лангерганса, химически различны, но функционально очень близки: инсулин, глюкагон и соматостатин. Паратгормон, кальцитонин и холекальциферолы (производные витамина D) совместно участвуют в гомеостатической регуляции уровня кальция в организме.

Гормональные системы могут включать гормоны разных химических классов. Например, к гонадотропной системе у особей женского пола относятся:

1. Один или несколько нейромедиаторов ЦНС.
2. Пептидергические нейроны, секретирующие гонадотропин-рилизинг (гонадолиберин) и гонадотропин-ингибирующий (гонадостатин) факторы.
3. Клетки передней доли гипофиза трех разных типов: одни секретируют ЛГ, вторые — ФСГ и третьи — ПРЛ.
4. Стероидные гормоны, вырабатываемые специфическими клетками яичников и желтого тела (эстрогены и прогестерон).
5. Ткани-мишени (органы размножения, молочные железы, мозг).
6. Ингибитор ФСГ, продуцируемый яичниками.

Следует учесть, что эта система использует химические переносчики, принадлежащие к моноаминам, олигопептидам, гликопротеинам и стероидам. Аналогичные системы существуют для регуляции функции семенников, коры надпочечников и щитовидной железы.

Общие свойства гормонов

К какому бы химическому классу ни принадлежали гормоны, они обладают рядом общих свойств. Остановимся на них подробнее.

Действие на чувствительные клетки

Гормоны не инициируют новых реакций в клетках-мишенях. Необходимо вновь подчеркнуть принцип, согласно которому способность реагирующих клеток повышать или снижать свою активность под действием гормона присуща самим этим клеткам и появляется в процессе их дифференцировки. Взаимодействуя с рецептором, гормоны запускают последовательность реакций, которые в совокупности формируют клеточный ответ. Зачастую такой ответ бывает координированным и включает ускорение одних биохимических процессов с одновременным торможением других. Более подробное описание клеточных механизмов действия гормонов приводится в следующей главе.

Скорость секреции

Гормоны секретируются с различной скоростью, зависящей от присутствия в крови субстратов, ионов, нейромедиаторов или других гормонов. Секреция некоторых из них, например ГР и АКТГ, обнаруживает отчетливые суточные колебания, связанные с циклом сон — бодрствование. Секреция других (например, гонадотропинов) подчиняется эндогенным «биологическим часам», которые работают в разных временных шкалах: 1) на протяжении отдельных периодов всей жизни индивидуума (эмбриональный период, детство, период полового созревания, детородный период, менопауза, старость); 2) в течение цикла беременность-лактация; 3) в течение менструального цикла; 4) импульсная секреция с регулярной периодичностью, измеряемой минутами.

Метаболическая инактивация и экскреция

Гормоны непрерывно элиминируются из организма в результате метаболической инактивации и (или) экскреции. Для компенсации этих потерь должна поддерживаться постоянная базальная продукция гормонов. Отсюда следует, что скорость их продукции должна возрастать в периоды повышенной потребности в гормонах. Таким образом, процессы *секреции* гормонов и их *синтеза,* хотя и могут быть разграничены в определенных экспериментальных условиях, в норме тесно взаимосвязаны.

Системы передачи информации

Гормоны функционируют в пределах закрытых систем передачи информации с обратной связью. Практически это означает, что как только гормон начинает действовать на чувствитель-

ную к нему клетку или группу клеток, одновременно возникает сигнал, тормозящий действие гормона. Торможение активированной железы по принципу отрицательной обратной связи может быть обусловлено *повышением концентрации другого гормона* (например, повышенный уровень тироксина, связанный с повышенной гипофизарной секрецией ТТГ, воздействует по механизму обратной связи на тиреотрофы гипофиза, препятствуя их стимуляции гипоталамическим ТРГ). Другой общий механизм, посредством которого тормозится функция активированной железы, заключается в *коррекции физиологического сдвига, явившегося первичной причиной активации этой железы.* В последующих главах будут приведены многие примеры, иллюстрирующие данное положение и касающиеся гомеостаза энергетических субстратов, регуляции уровня кальция и электролитного баланса.

Время действия

Время действия гормонов различно. Если расположить химические передатчики по срокам их действия — от секунд до суток, — то порядок окажется следующим:

Нейромедиаторы (мс),
Пептиды (с — мин),
Белки и гликопротеины (мин — ч),
Стероиды (ч),
Иодтиронины (сут).

При этом следует учитывать, что пептидные или белковые гормоны, результат действия которых легко наблюдать уже через несколько минут, могут оказывать и более продолжительное (ч, сут) влияние, если не удаляются из реакционной среды.

Теоретическая схема изучения гормонов

Изучая любой гормон, желательно получить о нем определенные конкретные сведения.

Точная химическая структура и свойства гормонов

Во многих случаях изучение химии гормона включает анализ не только природного вещества, но и его модификаций, синтезируемых химиками-органиками: синтетические аналоги часто обладают некоторыми полезными свойствами, которых лишен природный гормон. Они могут быть более либо менее активны, чем природный прототип, либо обладать избирательными эффектами прототипа, либо не оказывать нежелательных его эффектов. Иногда аналоги проявляют антигормональное

действие, что может оказаться полезным как для научных исследований, так и для клиники. Применение ряда аналогов способствует установлению зависимости между структурой и биологической активностью вещества.

Биосинтез гормонов

Пептидные гормоны синтезируются на рибосомах, связанных с эндоплазматическим ретикулумом, и упаковываются в секреторные гранулы в аппарате Гольджи. В настоящее время считают, что во всех случаях с поступающей к рибосомам мРНК транслируется пептид, размеры которого превышают размеры собственно гормона. Продуктом трансляции на этой стадии является *пре-про-гормон*. *Пре*-последовательность включает гидрофобные аминокислоты; по-видимому, она облегчает прохождение белка через зону липидов эндоплазматического ретикулума в его просвет. После этого *пре*-последовательность очень быстро отщепляется от первичного продукта трансляции. В случае инсулина *про*-участок отщепляется от *гормона* уже в секреторных гранулах. Возможное функциональное значение проинсулина обсуждается в гл. 14.

Особый механизм синтеза тиреоидных гормонов будет рассмотрен ниже. Однако эти гормоны образуются в результате гидролиза высокомолекулярного гликопротеина — тиреоглобулина. Этот прогормон отличается от большинства других тем, что хранится не в секреторных гранулах синтезирующих его клеток, а в виде больших коллоидных капель, имеющихся во многих эпителиальных клеток, формирующих фолликул. Тиреоглобулин, подобно гликопротеиновым гормонам, служит иллюстрацией того, что посттрансляционная модификация белка может играть важную роль в образовании гормонов. Этот процесс, заключающийся в присоединении олигосахаридов к белку, скорее всего происходит в просвете эндоплазматического ретикулума и аппарате Гольджи.

Во всех случаях белковые и пептидные гормоны хранятся либо в секреторных гранулах, либо в виде предшественников (тиреоглобулин). Для яичников, желтого тела, клеток Лейдига в семенниках и клеток коры надпочечников, продуцирующих стероидные гормоны, хранение больших количеств предварительно упакованного в гранулы гормона нехарактерно. Вместо этого они запасают предшественники гормонов — эфиры холестерола — в виде липидных капель. В этих клетках сигналы для секреции и ускорения синтеза гормона очень тесно сопряжены. По мере образования из запасов холестерола новых молекул гормона они быстро появляются в оттекающей от органа венозной крови.

Секреция гормонов

Высвобождение любого гормона стимулируется определенными сигналами. Они могут быть немногочисленными и высокоизбирательными, как при секреции паратгормона, или разнообразными и связанными очень сложными отношениями, как в случае инсулина или альдостерона. При рассмотрении каждого гормона мы попытаемся оценить сравнительное значение разных секреторных сигналов, поскольку изучение ответной реакции эндокринной железы часто способствует пониманию роли ее гормона в жизнедеятельности целого организма.

Торможение секреции гормонов

Существуют по крайней мере две категории ингибиторов секреции гормонов; первые имеют физиологическое значение, а к другим относятся фармакологические средства, используемые в анализе механизмов секреции гормонов. Примером ингибиторов первой категории служит кортизол, тормозящий секрецию АКТГ по механизму отрицательной обратной связи. Как ингибирующий фактор действует и симпатическая нервная система, тормозящая секрецию инсулина. Примером ингибиторов второй категории является колхицин (разрушающий микротрубочки): если предположить, что система микротрубочек участвует в высвобождении гормона из запасных гранул, то отсутствие секреторной активности обработанных колхицином клеток при действии соответствующего сигнала послужит веским доказательством подобного предположения.

Циркуляция гормонов в крови

Стероидные и тиреоидные гормоны переносятся специальными белками. Связанный с белком гормон в любой данный момент биологически неактивен; эффективность гормонального окружения для чувствительных клеток определяется концентрацией *свободного* гормона. Содержание белков-переносчиков как стероидных, так и тиреоидных гормонов при некоторых физиологических и патологических состояниях меняется

Природа гормональных рецепторов

Реакция клетки на гормон инициируется взаимодействием последнего со стереоспецифическим рецептором, или дискриминатором. Некоторые современные представления о рецепторах пептидных, стероидных и тиреоидных гормонов излагаются в разделе, посвященном механизмам их действия (гл. 2, 3 и 4).

Клеточный механизм действия гормонов

Реакциям чувствительных клеток на гормоны посвящена многочисленная литература. Ситуация, однако, несколько облегчается в связи с тем, что в настоящее время существует возможность типизации соответствующих реакций, позволяющая начать их описание в общей форме. Этому посвящены гл. 2, 3 и 4.

Значение гормонов для жизнедеятельности целостного организма

Каким образом клеточные эффекты гормона участвуют в обеспечении жизнедеятельности целостного организма? Этот вопрос и ответы на него необходимо иметь в виду всякий раз, когда речь идет о механизмах действия гормонов и физиологической регуляции их концентрации. По-видимому, изложенное ниже поможет понять важность взаимосвязей между различными уровнями биологической организации живого вещества.

Фрагментация и синтез: редукционизм и холизм

Механизмы регуляции метаболизма, будь то нервные или эндокринные, действуют на многих уровнях организации, каждый из которых занимает определенное место в иерархии. В нисходящем порядке от наиболее сложного к наиболее простому эти уровни можно представить следующим образом:

1. Целостный организм человека или животного.
2. Система органов.
3. Орган.
4. Клетка.
5. Клеточные органеллы.
6. Ферментные системы.
7. Отдельные ферменты.
8. Молекулы.
9. Атомы.
10. Свободные радикалы и субатомные частицы.

Иерархия уровней организации

Целостный организм человека и животного (холистическая биология)

Гормоны оказывают существенное влияние на поведение и, более того, необходимы для функционирования ЦНС. Нередко у больного с нарушением эндокринной системы появляются признаки неприспособленности к жизненным ситуациям, и он попадает к психиатру раньше, чем выявляются эндокринные основы

его неадекватного поведения. И наоборот, некоторые лица с повышенной возбудимостью и обостренной психической деятельностью могут напоминать больных гипертиреозом, хотя тщательное лабораторное обследование не обнаруживает у них никаких признаков дисфункции щитовидной железы. Тиреоидные гормоны абсолютно необходимы для развития ЦНС. Дефицит этих гормонов в неонатальном периоде обусловливает глубокие психические сдвиги.

Перечень гормонов, недостаток или избыток которых влияет на поведение, довольно большой и продолжает пополняться. К ним относятся гипоталамические либерины, гонадотропины (включая пролактин), половые стероиды, глюкокортикоиды, инсулин, альдостерон, ангиотензин, паратгормон и холецистокинин. Показано, что пептидный фрагмент АКТГ 4—10 ускоряет выработку условных рефлексов и замедляет их угасание у животных. Существует огромная литература по проблеме влияния недостатка и избытка гормонов на поведение. Исследователи этой проблемы успешно использовали весь арсенал методов изучения поведения. Однако такие исследования не обязательно проводятся на интактных животных: наблюдения на животных со строго локальными повреждениями ЦНС или на ненаркотизированных животных с хронически вживленными стимулирующими электродами способствовали выяснению механизмов поведенческих сдвигов, особенно касающихся отношения к пище и воде. Изучение поведения было дополнено радиоавтографическим и иммуноцитологическим анализом распределения в ЦНС рецепторов гормонов и фармакологических средств.

Полезную информацию ранее получали с помощью *балансовых экспериментов*. Идею баланса можно использовать по отношению к общему потреблению и затратам энергии, воды и основных электролитов — натрия и калия, кальция и фосфора, а также многих других физиологически важных веществ. Принцип эксперимента во всех случаях остается одним и тем же: тщательное количественное сопоставление поступления вещества в организм и его выведения позволяют сделать вывод, происходит ли потеря или задержка вещества. Мы говорим, «положительный азотный баланс» в тех случаях, когда поступление азота в организм превышает его потери любым возможным путем. Аналогично, выражение «отрицательный азотный баланс» означает недостаточность потребления азота по отношению к его общим потерям из организма. Такой метод может дать важные сведения о влиянии дефицита гормона, его заместительных доз или избыточного содержания, поскольку соответствующие эксперименты осуществимы на ненаркотизированных и необездвиженных животных и даже на людях, находящихся в специально оборудованных метаболических камерах.

Системы органов

Эффекты дефицита или избытка гормонов можно исследовать и на тех диффузно расположенных системах органов, которые нельзя полностью выделить из организма. Примерами таких систем являются нервная, ретикулоэндотелиальная, гемопоэтическая и система периферических сосудов. Так, отсутствие гормона и восстановление его уровня можно определить по изменениям ЭЭГ, артериального давления, фагоцитарной активности ретикулоэндотелиальных клеток, а также формулы крови и гистологии костного мозга.

Орган

Когда исследования проводятся на интактном организме, не всегда легко определить вклад отдельного органа в общий эффект. Например, повышение уровня глюкозы в крови может быть результатом либо снижения скорости ее элиминации, либо повышения уровня ее продукции печенью. Для оценки роли отдельного органа используют определение артерио-венозной разницы. При определении концентрации таких веществ, как глюкоза, в крови, поступающей в орган, и в венозной крови, оттекающей от него, с учетом одновременно определяемой скорости кровотока можно рассчитать, в какой степени субстрат либо поглощается органом, либо поступает из него в кровь. Недавно разработанная безопасная методика катетеризации сосудов человека позволила исследователям проводить изящные опыты такого типа и на людях. Некоторые из них подробнее будут описаны в гл. 13.

Другим широко применяемым методом является изоляция или удаление *органа* у экспериментальных животных с тем, чтобы избирательно *перфузировать* его растворами известного состава с точно заданной скоростью (что достигается с помощью специальных перфузионных насосов). Большинство подобных опытов выполнено на сердце, печени и почке, но успешно перфузировали и другие органы, например поджелудочную железу и жировую ткань. Эта методика позволяет сравнивать метаболическую активность и чувствительность к гормонам органов, удаленных у животных с гормональной недостаточностью, у контрольных особей или животных, получавших гормон извне.

Очень много важных сведений получено при изучении срезов ткани печени и почек. Однако при всей полезности такого подхода ткань получаемых препаратов оказывается сильно травмированной, и ее метаболическая активность обычно уступает активности хорошо перфузируемых органов или диспергированных клеток (см. следующий раздел).

Интересные возможности открывает исследование мини-органов, например, островков Лангерганса из поджелудочной железы. Метод предполагает выделение и концентрирование островков путем мягкой обработки поджелудочной железы крысы ферментами, отделяющими островки от окружающей их экзокринной ткани. Островковую ткань можно изучать in vitro, в том числе с помощью *перфузии*. При этом островки помещают на пористую подложку, непрерывно подавая на них перфузионную среду и собирая перфузат. Состав перфузионной среды можно быстро менять и тем самым регистрировать поминутную динамику секреции гормонов (например, инсулина и глюкагона). Подобные эксперименты оказались возможными благодаря разработке чувствительных радиоиммунологических методов определения гормонов.

В последние годы эндокринологи все чаще используют методы *тканевых* или *органных культур*; такой подход обладает многими преимуществами, среди которых следует отметить возможность получения «чистых культур» эукариотических клеток подобно тому, как микробиологи получают чистые культуры микроорганизмов. Позднее мы увидим, что *генетический анализ реакций на гормоны в культуре клеток*, проведенный впервые школой Томкинса, А. Джильмана и другими исследователями, оказался мощным средством выяснения клеточных механизмов действия гормонов.

Клетка

В соответствии с традициями Шлейдена, Шванна и Вирхова эндокринологов особенно интересует клетка и ее реакции на гормоны. Изолированные и диспергированные адипоциты с их реакциями на липолитические и антилиполитические гормоны должны считаться одними из наиболее подробно изученных эукариотических клеток за всю историю биологии. Такие клетки получают по методике, предложенной Родбеллом (Rodbell); измельченную жировую ткань мягко обрабатывают коллагеназой, отделяющей клетки друг от друга. Их довольно легко собрать, поскольку благодаря высокому содержанию триацилглицеролов они всплывают в центрифужной пробирке. Позже с помощью аналогичных методик были исследованы разнообразные препараты диспергированных клеток, в том числе надпочечниковых, гипофизарных, костных, островковых и печеночных.

Когда-то морфологические науки и биохимия существовали независимо друг от друга. С появлением электронной микроскопии, радиоавтографии, гистохимии и иммуноцитологии эти дисциплины слились воедино. В США эндокринология выделилась

из гистологии, да и позднее применение морфологических методов для решения эндокринологических проблем оказалось весьма плодотворным. Электронная микроскопия, например, позволяет различать множество секреторных клеток передней доли гипофиза на основании их структурных особенностей и характера секреторных гранул. Легко удается идентифицировать клетки ЦНС, избирательно концентрирующие некоторые стероидные гормоны. Клетки, секретирующие тот или иной гормон, можно отличить от окружающих с помощью метода иммунофлуоресцентной микроскопии, который основан на использовании антител к гормону, ковалентно связанных с флуоресцирующим красителем.

Клеточные органеллы

Во времена Вирхова клетка считалась элементарным уровнем организации живого. В наши дни она представляется новым микрокосмом, включающим элементы, которые и сами по себе очень сложно устроены. Каждый из этих элементов немаловажен для понимания механизмов действия гормонов.

Плазматическая мембрана, формирующая барьер и основные каналы связи между клеткой и окружающей ее средой, является в настоящее время центральным объектом внимания многих исследователей. Некоторые эндокринологи решительно занимаются только плазматической мембраной, что имеет серьезные основания: эта структура содержит множество гормональных рецепторов, каналов для транспорта ионов и субстратов, ферментов, генерирующих «вторые посредники», и наверняка еще многое другое. То, что на популярной жидкостно-мозаичной модели плазматической мембраны, предложенной Сингером и Николсоном, выглядело как инертные шарики, превратилось в динамическое скопление молекул, контролирующих внутриклеточные процессы и играющих важнейшую роль в адаптации клеток к изменяющимся условиям среды. Позднее мы вернемся к плазматической мембране.

Ядро, содержащее основную часть генетического материала клетки, принимает в механизме действия гормонов самое непосредственное участие. Современные теории механизма действия стероидных гормонов и тироксина сфокусированы на процессах, протекающих именно в ядре. Пептидные и белковые гормоны тоже оказывают на ядро существенное влияние.

Митохондрии — генераторы клеточной энергии, — как легко можно себе представить, играют важную роль в действии гормонов (в частности, инсулина и глюкагона), участвующих в регуляции промежуточного обмена. Эти органеллы обеспечивают энергией и реакции, инициируемые действием многих других

гормонов и заключающиеся, например, в стимуляции секреторных процессов или синтеза белка. Изменение функций митохондрий является характерным признаком гипер- и гипотиреоидных состояний.

Рибосомы и *аппарат синтеза белка* занимают ведущее место во многих гормональных эффектах, зависящих от белкового синтеза. Это справедливо не только для стероидных и тиреоидных гормонов, но и для АКТГ, ЛГ, ФСГ и многих других.

Эндоплазматический ретикулум и *аппарат Гольджи* играют особую роль в биосинтезе белковых гормонов, а также в образовании компонентов плазматической мембраны.

Лизосомы принимают важнейшее участие в метаболизме клеточных макромолекул и в воспалительных процессах. С биологией воспаления тесно связаны гормоны, простагландины и лейкотриены (см. гл. 11).

Микротрубочки и *микрофиламенты* участвуют как в процессах секреции гормонов, так и в механизмах их действия.

Для изучения клеточных органелл, особенно мембран, широко используется *методика центрифугирования в градиенте плотности*. Идентифицируя фракции мембран по маркерным ферментам (т. е. локализованным исключительно в данной мембранной фракции), можно получить нужную фракцию в очищенном виде и изучать ее с помощью различных методов. Действительно, Шварцу и сотр. (Schwartz et al.) удалось даже разделить люминальные и контрлюминальные мембраны клеток почечных канальцев и исследовать их специфические особенности (см. гл. 6).

Ферментные системы

Помимо видимой субклеточной организации в клетке существует и не видимая в микроскоп организация, базирующаяся на объединении ферментов в функциональные системы или метаболические пути. Некоторые из них, например принимающие участие в транспорте электронов и окислительном фосфорилировании, связаны друг с другом структурно — в мембране митохондрий. Такое взаимодействие Ленинджер назвал «твердофазной энзимологией». Другие ферменты расположены у клеточной поверхности. Третьи контактируют с эндоплазматическим ретикулумом. Многие ферменты обнаруживаются в той фракции клеток, которую обычно называют *цитозолем* (т. е. в той части гомогената, которая остается в надосадочной жидкости после центрифугирования при 100 000 g). Это не означает, конечно, что внемитохондриальные, внемембранные ферменты распределены в клетке случайным образом. Насколько мы знаем, ферментные комплексы подчиняются сложной компартментализа-

ции в клеточном геле, хотя привычнее считать их «растворимыми».

Одним из главных результатов действия гормонов является *изменение характера прохождения субстратов через мультиферментные системы.* Это станет одной из основных тем нашего анализа гормональных эффектов, особенно действия инсулина и глюкагона на процессы липогенеза, глюконеогенеза и кетогенеза в печени (см. гл. 14).

Отдельные ферменты

Роль отдельных ферментов в действии гормонов достаточно очевидна. Значение дефицита отдельного фермента для эндокринологии целостного организма можно понять, изучая мутанты, у которых отсутствует либо фермент, необходимый для биосинтеза гормона, либо фермент, участвующий в реакции клетки на гормон. Такие врожденные «ошибки» метаболизма подробно исследованы в тиреоидной системе, в коре надпочечников и в системе паратгормон — холекальциферол.

Молекулы

Термин «молекулярная биология» используется в основном применительно к анализу последовательности реакций ДНК⟶ ⟶РНК⟶синтез белка. С этих позиций эндокринология не может быть иной, кроме как молекулярной, даже если гормоны влияют на процессы, имеющие лишь косвенное отношение к работе генетического аппарата клетки. И в тех случаях, когда невозможно дать точное молекулярное описание гормональных механизмов, наши теории учитывают свойства отдельных молекул, имеющих различные размеры (от макромолекул до субстратов). В последующем анализе клеточных механизмов действия гормонов (гл. 2, 3 и 4) мы попытаемся по возможности приблизиться к описанию этих механизмов в молекулярных терминах.

Атомы и ионы

Невозможно описать эффект действия гормона или последствия гормональной недостаточности, не подчеркивая значения любых атомов, особенно электролитов и составных частей воды. Натрий, калий, фосфор, кальций и другие ионы играют первостепенную роль и как объекты регуляции (с количественной точки зрения), и как звенья регуляторных процессов.

Свободные радикалы и субатомные частицы

Среди эффектов по крайней мере одного гормона можно назвать стимуляцию образования свободного радикала из иона: перекисное окисление иодида в иодиний, происходящее в клетках щитовидной железы под влиянием ТТГ, является крайне важным для общего действия ТТГ, поскольку служит необходимым условием иодирования тирониновых структур в тиреоглобулине. Если такое перекисное окисление отсутствует, как это имеет место при некоторых врожденных дефектах метаболизма щитовидной железы, возникает дефицит тиреоидных гормонов.

Гормоны тесно связаны с процессами переноса электронов (как в митохондриях, так и в системе гидроксилирования с участием цитохрома Р-450, играющей роль в биосинтезе стероидных гормонов). Под гормональным контролем — прямым или косвенным — находятся многие ферменты, являющиеся частью систем, генерирующих восстановительные эквиваленты для биосинтетических реакций (липогенеза, глюконеогенеза).

Обычно у исследователей, начинающих с наблюдений на уровне целостного организма, по мере продвижения работы возникает все больше и больше вопросов до тех пор, пока они не попытаются решить исходную проблему на молекулярном уровне. История эндокринологии во многом отражает именно такую последовательность событий. Иногда начинают с «чисто» молекулярной проблемы, и в дальнейшем оказывается, что она имеет значение для целостного организма. Например, один из вариантов гемоглобина — A_{1c} — впервые был идентифицирован по своеобразным физическим характеристикам; затем оказалось, что он содержит ковалентно связанную глюкозу, и в конце концов было установлено, что концентрация этой формы гемоглобина отражает интегрированный уровень глюкозы в крови у больных диабетом за несколько недель до проведения анализа. Таким образом, первично «молекулярное открытие» трансформировалось в полезный показатель эффективности регуляции гликемии при диабете (см. гл. 14). Постоянное взаимодействие между исследователями, работающими на уровне целостного организма, и теми, кто занимается другими уровнями биологической организации, служит залогом получения интересных и полезных результатов.

Методы

Как только появляются новые морфологические, химические, электрофизиологические, иммунологические и другие методики, они находят очень быстрое применение в эндокринологии. Например, в 30—40-х годах для изучения стероидов применялись

весьма сложные методы. Это обусловило большие успехи в понимании структуры и биосинтеза стероидных гормонов. Возможность использования радиоактивных изотопов, появившаяся в конце 40—50-х годов, расширила наши знания о многих аспектах иодного цикла, промежуточного обмена, транспорта ионов и т. д. Значение успехов пептидной и белковой химии уже упоминалось. Позднее для изучения многих белков, в том числе гормональных рецепторов, было творчески использовано сочетание электрофореза в полиакриламидном геле с радиоавтографией. Одновременно с этими впечатляющими успехами в химии еще более плодотворным оказалось применение гистохимических, иммуногистохимических и электронно-микроскопических методов.

Все варианты хроматографии — колоночная, тонкослойная, бумажная, многомерная, газо-жидкостная (с масс-спектрометрией или без нее), высокоэффективная жидкостная — использовались эндокринологами тотчас же после их появления. Они позволили получить важные сведения не только об аминокислотной последовательности пептидов и белков, но и о липидах (особенно простагландинах и близких к ним веществах), углеводах и аминах.

По мере разработки молекулярно-биологических методов исследования эндокринологи быстро применяют их для изучения механизмов действия гормонов. В настоящее время метод рекомбинантных ДНК используется не только для этой цели, но и для производства белковых гормонов (инсулина, гормона роста), необходимых для заместительной терапии в случае их дефицита у больных. Действительно, трудно назвать биохимический или физиологический метод, который *не* был бы взят на вооружение эндокринологами.

Определение гормонов

Биологические методы

Чтобы обнаружить гормон, необходимо прежде всего располагать воспроизводимыми методами его определения, и в течение многих лет единственно возможным методом оценки уровня гормона был *биологический*. Хотя соответствующие методики часто весьма трудоемки, они были и остаются чрезвычайно полезными, что доказывает недавнее открытие соматостатина Гийеменом (Guillemin) и др. В основе всех биологических методов лежит один и тот же принцип: на тест-системе (целое животное, орган, фрагмент ткани, клетка, ферментная система) проверяют эффекты известных количеств изучаемого гормона и строят стандартную кривую. Затем на той же системе сравни-

вают активность неизвестной пробы с известной. Например, тестостерон дозозависимо стимулирует рост предстательной железы у неполовозрелых или кастрированных крыс. Поэтому с помощью данного теста можно оценить андрогенную активность неизвестного вещества в сравнении с тестостероном.

Устарели ли биологические методы сейчас, когда появились более новые способы определения гормонов (см. ниже)? Разумеется, нет, и это показывают последние работы Вейна (Vane) и сотр. (см. гл. 4). Более того, биологические методы необходимы, поскольку с помощью радиоиммунологических методов (см. ниже) могут выявляться вещества, лишенные биологической активности. Поэтому часто приходится параллельно оценивать радиоиммунологическую и биологическую активности.

В течение многих лет при изучении гормонов применялись в основном *химические методы*. Они и до сих пор остаются весьма полезными, особенно для определения метаболитов тиреоидных, стероидных гормонов, катехоламинов, простагландинов и других небольших молекул (см. выше раздел «Методы»).

Радиолигандные методы

Изучая механизм инсулинорезистентности, развивающейся у некоторых больных диабетом, Берсон и Ялоу (Berson, Yalow) вводили им следовые количества меченого радиоактивного инсулина с возрастающими дозами немеченого инсулина и обнаружили, что у части больных имеются антитела к этому гормону. Было показано, что радиоактивный и нерадиоактивный инсулин конкурируют за связывающие участки антител. Поняв, что такая конкуренция могла бы послужить основой количественного определения уровня инсулина в крови, эти авторы начали систематически изучать взаимодействие меченого и немеченого инсулина с антителами. Кульминацией их исследований явилась прекрасная разработка первого радиоиммунологического метода. Значение этого методического «прорыва» для современной эндокринологии можно сравнить со значением использования телескопа для астрономии в XVII в. Принципы, разработанные Берсоном и Ялоу, не только применяются для изучения все большего числа различных биологически важных веществ, но и обусловили многие современные успехи в области анализа гормон-рецепторных взаимодействий. В настоящее время можно с большой точностью определить данный гормон в количестве всего 1 пг или менее, причем на фоне в несколько *миллиардов* бо́льших концентраций других белков и пептидов в плазме. Метод позволяет не только определить столь малые концентрации, но и с высокой точностью проследить их *поминутные* изменения. Значение данного метода лучше всего оце-

нить, если представить себе, что речь идет о точном определении 0,0000000001 г гормона среди 7,50000000000 г белка и что этот гормон (если он пептид) состоит из того же набора аминокислот. Кроме того, при определенном везении можно получить столь активную и специфическую антисыворотку, что ее удается использовать в крайне высоких разведениях — до 1 : 4000000. Это означает, что от одного иммунизированного животного можно получить антитела в количестве, достаточном для многих миллионов определений. В некоторых случаях вместо антител используют специфический белок, обладающий высоким сродством к исследуемому веществу (например, мембранный рецептор или транспортный белок).

В основе всех радиолигандных методов (будь то радиоиммунологический или базирующийся на использовании не антител, а других связывающих белков) лежит один и тот же принцип, предполагающий необходимость разделения связанного (В — от англ. bound) и свободного (F— от англ. free) гормона. В оригинальном методе Берсона и Ялоу для этой цели применялся бумажный электрофорез. Подсчитывали радиоактивность двух пятен: одного, соответствующего В, и другого — F. Делением радиоактивности одного пика на радиоактивность другого получали отношение B/F в качестве интегрального показателя.

Другие исследователи (Hales, Randle) сочли более удобным разделять В и F с помощью *метода двойных антител.* Часто комплекс гормон-антитело — $\text{Г}\cdot\text{Ат}_1$ (В) — оказывается растворимым. Однако его можно осадить с помощью второго антитела (Ат_2), направленного против первого (Ат_1). Тогда разделение В и F происходит следующим образом:

1. Г (F) + $\text{Г}^*\text{Ат}_1$ (В) → $\text{Г}\cdot\text{Г}^*\cdot\text{Ат}_1$ (В) (растворимый комплекс) + Г* (F).
2. $\text{Г}\cdot\text{Г}^*\cdot\text{Ат}_1$ (В) + Ат_2 → $\text{Г}\cdot\text{Г}^*\cdot\text{Ат}_1\cdot\text{Ат}_2$ (В) (нерастворимый комплекс).

(Г — немеченый гормон; F — свободный гормон; Г* — радиоактивный гормон; Ат_1 — антитела морской свинки против Г; В — связанный гормон; Ат_2 — кроличьи антитела к глобулину морской свинки).

Связывающие участки насыщаются радиоактивно меченным веществом. Если определяемый гормон является белком, нужно убедиться в том, что присоединение метки не влияет на его биологические свойства. Комплекс радиоактивного гормона с антителом инкубируют на холоду с немеченым определяемым гормоном. Хотя антитела или другие связывающие белки обладают высоким сродством к гормону, происходит постоянная диссоциация и реассоциация комплекса. Низкая температура препятствует денатурации реактантов. В результате конкурен-

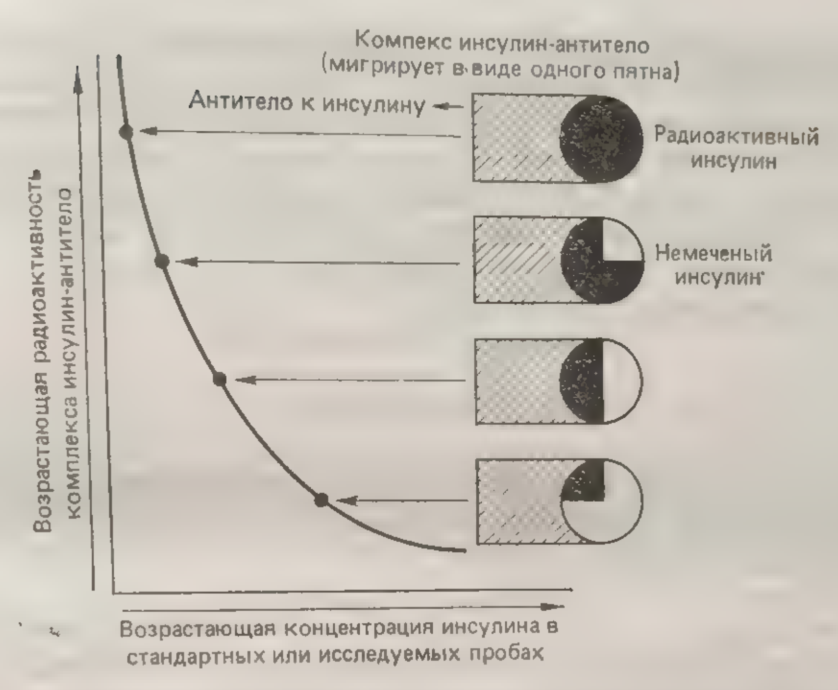


Рис. 1-2. Схематическое изображение принципа радиоиммунологического метода Берсона и Ялоу. [По Berson S. A., Yalow R. S. (1965). Diabetes, 14, 549 (Бантинговская лекция). Воспроизведено с разрешения.]

ции между радиоактивным и немеченым гормоном за связывающие участки отношение связанных с антителами *меченого* и *немеченого* гормона уменьшается по мере роста концентрации немеченого гормона (рис. 1-2). Для построения стандартной кривой используют растворы, содержащие известные количества немеченого гормона. Затем по этой кривой рассчитывают неизвестную концентрацию гормона в исследуемой пробе.

Если требуется сравнить лишь степень связывания антителами известного и неизвестного количеств гормона, то осадок можно отмыть от F (как Г, так и Г*) и подсчитать его радиоактивность. Другие методы разделения B и F предусматривают ковалентное присоединение антител к подложке или внутренней поверхности пробирки. Иногда пользуются избирательной сорбцией F на адсорбенте, который не связывает B.

Принцип радиоиммунологического определения был применен и к небольшим молекулам. В качестве лишь отдельных примеров можно упомянуть фармакологические средства, стероиды, циклические нуклеотиды и тиреоидные гормоны. Эти небольшие молекулы ковалентно присоединяют к молекулам белка и в результате получают комплекс антител, обладающих чрезвычайно высокой специфичностью. Например, антитела способны узнавать 17β-эстрадиол и не взаимодействовать с 17α-эстрадиолом, хотя эти вещества различаются только плоскостной проекцией единственного H^+.

Одно из главных преимуществ современных радиоиммунологических методов заключается в том, что с их помощью удается проводить множественные определения концентрации гормонов у человека и таким образом выявить ритм их секреции. При работе с экспериментальными животными зачастую приходится экстраполировать полученные результаты на человека, но если определения сразу же проводятся у человека, то необходимость экстраполяции отпадает.

Литература[1]

Alberts B., Bray D., Lewis J. et al. (1983). The Molecular Biology of the Cell, New York, Garland Publishing Co., Inc.
Barrington E. J. W. (1975). An Introduction to General and Comparative Endocrinology, ed. 2, Oxford, Clarendon Press.
Bloom W., Fawcett D. W. (1968). A Textbook of Histology, Philadelphia, WB Saunders Co.
Bondy P. K., Rosenberg L. E. (eds.), (1974). Diseases of Metabolism, ed. 7, Philadelphia, WB Saunders Co.
DeGroot L. J. (ed.). (1979). Endocrinology, vol. 3, New York, Grune & Stratton.
Felig P., Baxter J. D., Broadus A. E. et al. (eds.) (1981). Endocrinology and Metabolism, New York, McGraw-Hill Book Co.
Gilman A. G., Goodman L. S., Rall T. W. et al. (eds.) (1985). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, ed. 7, New York, Macmillan Publishing Co.
Greenspan F. S., Forsham P. H. (1983). Basic and Clinical Endocrinology, Los Altos, California, Lange Medical Publications.
Martin C. R. (1985). Endocrine Physiology, New York, Oxford University Press.
Wilson J. D., Foster D. W. (eds.) (1985). Williams Textbook of Endocrinology, ed. 7, Philadelphia, WB Saunders Co.
Zubay G. (ed.) (1983). Biochemistry, Reading, Massachusetts, Addison-Wesley Publishing Co.

---

[1] В списке литературы автор приводит не все упоминающиеся в тексте работы. — *Прим. перев.*

Часть II

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ

Глава 2

Стероидные гормоны

Изложение основ эндокринологии можно начинать как с уровня целого организма, так и с уровня клетки. Можно описывать сигналы, вызывающие секрецию гормонов, колебания концентраций гормонов в крови, а также общие физиологические эффекты гормонов, не давая отдельным клеткам никаких других характеристик, кроме характеристики «черного ящика». Однако последние успехи в изучении действия гормонов на клеточном уровне выявили общие черты в реакциях клеток различных типов на разнообразные гормоны. Если вначале описать некоторые общие механизмы гормональных эффектов, то это значительно облегчит дальнейшее рассмотрение особенностей механизма действия отдельного гормона.

Исходное допущение

Любой анализ действия гормонов опирается на *допущение*, которое, с одной стороны, служит важным инструментом познания, а с другой — свидетельствует о нашем глубоком неведении. Это допущение заключается в том, что *гормональные эффекты реализуются путем конформационных изменений белковых молекул, занимающих в клетке стратегически важное положение*. Такие белки могут функционировать как рецепторы гормонов, преобразователи сигнала между рецептором и определенной эффекторной системой ферментов, как ферменты, активаторы или ингибиторы ферментов или компоненты мембранных транспортных систем. Все гормональные эффекты во всех чувствительных клетках можно представить как сложную серию координированных изменений формы множества специфических для данной клетки белков. Тот факт, что мы почти ничего достоверно не знаем об изменениях пространственной структуры белков, принимающих участие в механизмах действия гормонов, не мешает предполагать, что такие изменения действительно лежат в основе этих механизмов.

В первичной аминокислотной последовательности любого белка заложена информация, необходимая для приобретения им вторичной и третичной структур. Четвертичная структура

определяется формой отдельных субъединиц. Биологическая активность белка зависит от его третичной и четвертичной структур, которые могут изменяться под действием следующих факторов:

1. *Аллостерических модуляторов,* которые нековалентно связываются с белком на определенном расстоянии от его активного центра.

2. *Ковалентных модуляторов,* таких, как фосфат, который присоединяется к белкам с помощью киназ и должен отщепляться фосфатазами. (Значение регуляции путем обратимого фосфорилирования белков, занимающих стратегически важное положение в клетке, рассматривается в гл. 3.) Состояния различной степени активности обычно обратимы и изображаются в виде:

Неактивный ⇄ Активный

или

□ ⇄ ○

b ⇄ a

Для некоторых ферментов на основании кинетического анализа предполагаются и промежуточные состояния между полностью неактивным и полностью активным. Имеется множество данных о структурных детерминантах биологической активности и рецепторного связывания как стероидных, так и нестероидных гормонов. Описаны отчетливые изменения физических параметров стероид-рецепторных комплексов. Однако до сих пор нет точных сведений о каких-либо модификациях третичной или четвертичной структур любого белка, участвующего в механизме действия какого-либо гормона. Тем не менее если исключить *гипотезу* о конформационных изменениях белков из представлений о действии гормонов, то мало что останется для обсуждения.

Временные параметры регуляции

Изменение активности фермента, действующего в ключевой точке последовательности реакций, может быть обусловлено двумя способами: 1) общее количество молекул фермента не меняется, но их активность возрастает или снижается вследствие взаимодействия с аллостерическим или ковалентным модулятором (таким, как PO_4), что приводит к изменению сродства фермента к реактантам; 2) увеличивается общее количество молекул фермента, которому может предшествовать та же модуляторная регуляция, что и в предыдущем случае. Первый

способ мы называем *срочной* регуляцией, а второй — *долговременной*, или *хронической*. Очевидно, что увеличение числа молекул фермента требует либо ускорения синтеза последнего, либо замедления его распада, либо сопряжения этих двух процессов. В дальнейшем мы встретим много примеров срочной и хронической регуляции *не только метаболических реакций, но и компонентов регуляторных механизмов, которые сами являются объектом регуляции.*

Исторический очерк

Уже макро- и микроскопические данные указывают на то, что эстрогены и андрогены стимулируют синтез белка в органах-мишенях. В 50-х годах Дж. Мюллер (G. Mueller) описал накопление рибонуклеиновой кислоты (РНК), белка и дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) в стимулированных эстрогенами тканях. Позднее Мюллер и Горски (Gorski) впервые провели эксперименты по ингибированию действия эстрогенов и показали, что большинство эффектов этих гормонов блокируется ингибиторами трансляции (пуромицин) и транскрипции (актиномицин D).

В 1960 г. Карлсон и Клевер (Karlson, Clever) обнаружили появление вздутий («пуфов») в гигантских хромосомах личинок насекомых после инъекции им небольших количеств стероидного гормона — экдизона. При радиоавтографических исследованиях оказалось, что «пуфы» являются участками энергичного синтеза РНК. Карлсон сформулировал гипотезу, вытекающую еще из опытов Мюллера, согласно которой стероидные гормоны стимулируют или активируют специфические участки генома, кодирующие тканеспецифические информационные (матричные) РНК (мРНК), обеспечивающие синтез определенных белков; одновременно происходит активация синтеза рибосомной и транспортных РНК. Такова и на сегодняшний день сжатая формулировка наших представлений, хотя известны некоторые эффекты стероидных гормонов, которые трудно объяснить процессами транскрипции (см. ниже).

Вскоре были разработаны методы, позволившие провести решающие эксперименты. Удалось получить меченный тритием эстрадиол с очень высокой удельной радиоактивностью. И. Йенсен и сотр. (Jensen et al.) вводили крысам меченый эстрадиол в физиологических дозах (т. е. микрограммовых количествах) и прослеживали его распределение в тканях и крови. Они обнаружили, что ткани-мишени — матка и влагалище — избирательно концентрируют меченый гормон и задерживают его на гораздо больший срок, чем другие ткани. Метка в тканях-мишенях сохранялась даже в том случае, когда концентра-

ция гормона в крови становилась неопределимой. Эти авторы впервые продемонстрировали и связывание эстрадиола со специфическим рецепторным белком. Тофт (Toft) и Горски для изучения рецепторов эстрадиола применили центрифугирование в градиенте плотности сахарозы, что явилось мощным импульсом для дальнейших исследований. Для характеристики стероидов стали использовать коэффициенты седиментации (например, 4S, 5S, где S — единицы Сведберга).

Позднее для изучения механизмов действия гормонов были творчески использованы теоретические основы и практические методы молекулярной биологии, разработанные специалистами при исследовании вирусов и прокариот. Два направления — метод рекомбинантных ДНК и получение моноклональных антител — открыли почти безграничные возможности для изучения не только механизмов действия гормонов, но и других медико-биологических проблем.

Действие стероидных гормонов

Стероидные гормоны влияют на дифференцировку, рост и адаптацию клеток к новым метаболическим условиям. Чувствительные к этим гормонам клетки для нормального функционирования требуют непрерывного поступления поддерживающих количеств гормона. Стероиды индуцируют синтез многих специфических для данной клетки белков в процессе ее дифференцировки. В некоторых клетках-мишенях (например, в клетках яйцеводов) небольшое число индуцируемых белков может составлять более 70% всего синтезируемого белка, тогда как в других (например, в печени) — глюкокортикоиды влияют на синтез (стимулируя или ингибируя) менее 5% белка. Таким образом, проблема механизмов действия стероидных гормонов является составной частью крайне сложной проблемы регуляции активности ферментов у эукариот.

Координированный характер действия стероидных гормонов (рис. 2-1)

Не уточняя, *где* действуют стероидные гормоны, последовательность происходящих при этом реакций можно суммировать следующим бразом:

1. Проникновение стероида (С) в клетку.
2. Образование комплекса С·Р.
3. Трансформация С·Р в форму, способную связываться ядерными акцепторами — [С·Р].
4. Связывание [С·Р] с хроматиновым акцептором, специфическим кислым белком и специфической последовательностью оснований ДНК.

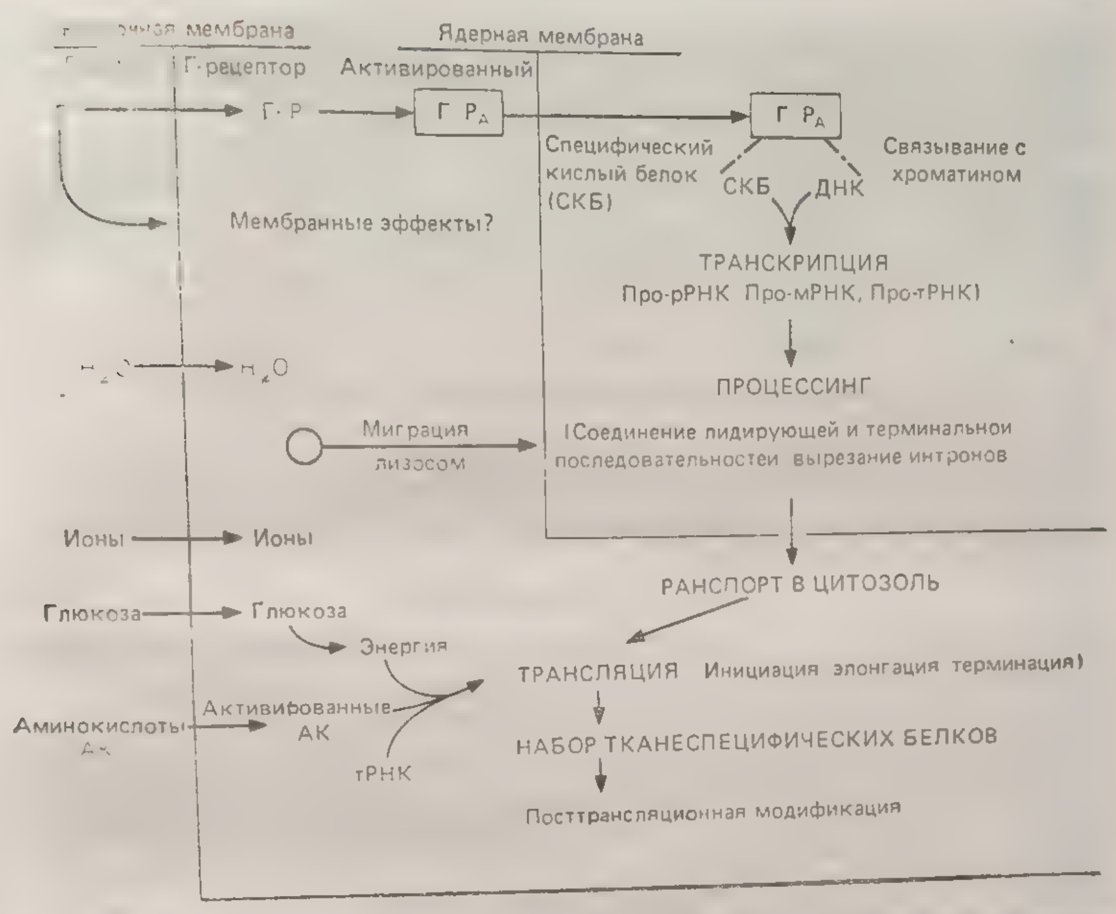


Рис. 2-1. Схема действия стероидных гормонов. Данные о локализации незанятых рецепторов приведены в тексте.

5. Избирательная инициация транскрипции специфических мРНК; координированный синтез транспортных РНК (тРНК) и рибосомных РНК (рРНК).

6. Процессинг первичных РНК-транскриптов: метилирование, полиаденилирование, вырезание интронов, сплайсинг экзонов, метаболизм вырезанных интронов и т. п.

7. Транспорт определенных мРНК в цитоплазму.

8. Трансляция поступающих мРНК на обогащенной популяции рибосом в среде, содержащей повышенные количества субстратов метаболизма (глюкозу, аминокислоты) и достаточные количества тРНК для поддержания синтеза белка на высоком уровне.

9. Посттрансляционные модификации белков.

Проникновение стероидов в клетку

Стероидные гормоны представляют собой жирорастворимые вещества, которые в крови связаны с белками-переносчиками. Сродство каждого гормона к своему белку-переносчику столь

велико, что в несвязанном (свободном) виде обнаруживаются лишь малые количества гормона. Однако биологической активностью обладает именно свободный стероид.

В отношении способа проникновения стероидных гормонов в клетку имеется некоторая неопределенность. Всегда считали, что они просто растворяются в липидном бислое плазматической мембраны. Однако в настоящее время появились указания на возможность присутствия на плазматической мембране специфических рецепторов для эстрогенов и глюкокортикоидов, транспортирующих соответствующие гормоны. Отношения между этими мембранными белками и внутриклеточными рецепторами (которые будут рассмотрены ниже) неясны.

Рецепторы и их активация

Все рецепторы стероидных гормонов представляют собой глобулярные белки примерно одинакового размера, с очень высоким сродством связывающие гормоны. Именно поэтому чувствительные клетки могут концентрировать стероиды в условиях крайне низких концентраций свободного гормона в растворе. До недавнего времени большинство авторов считали, что незанятые рецепторы локализуются вне ядра и быстро связывают стероиды, проникшие в клетку через плазматическую мембрану. Это приводит к образованию стероид-рецепторных комплексов, перемещающихся в ядро, где они связываются с хроматиновым акцептором. Считалось, что транслокация зависит от температуры, т. е. происходит при 37°, но не при 2 °C. Все эти выводы были сделаны на основании результатов дифференциального центрифугирования тканевых гомогенатов (отделения ядер от цитозоля) и радиоавтографии (визуализации зоны радиоактивно меченных стероидов над цитозольной и ядерной зонами в определенных популяциях клеток). В настоящее время большинство исследователей полагают, что указанные выше эксперименты были методически небезупречны. По-видимому, практически все незанятые рецепторы связаны с ядром еще *до* того, как стероид проник в клетку (см. обзор Горски и др., 1984). Такая точка зрения оставляет открытым следующий вопрос: каким же образом все-таки гидрофобные стероиды пересекают на своем пути в ядро водное пространство цитоплазмы? В любом случае должен существовать температурозависимый процесс, трансформирующий С·Р в [С·Р] прежде, чем произойдет его высокоаффинное связывание с компонентами ядра.

«Классическая» схема механизма действия стероидов была модифицирована на основании данных о том, что рецепторы эстрогенов, прогестерона и глюкокортикоидов обратимо фосфо-

рилируются киназой и дефосфорилируются фосфатазой. Оказалось, что только фосфорилированный рецептор может связать гормон. Кроме того, для связывания гормона глюкокортикоидным рецептором последнему необходимы SH-группы. Таким образом, рецептор должен подвергнуться определенной «подготовке», прежде чем приобретет способность связывать гормон и эффективно взаимодействовать со своим хроматиновым акцептором.

Связывание [С·Р] с хроматиновыми акцепторами

Любая соматическая клетка содержит всю генетическую информацию, заложенную в оплодотворенном яйце, из которого она развилась. Во время дифференцировки, когда клетка становится в конце концов мышечной, нервной или секреторной, бóльшая часть ее ДНК сворачивается в плотные клубки вместе с определенным набором ядерных белков, препятствующих транскрипции. Такая ДНК устойчива к расщеплению под действием ДНКазы I. Небольшая доля ДНК (менее 10%), сохраняющая чувствительность к ДНКазе I, состоит из ДНК трех видов: 1) транскрипционно неактивной на протяжении всего срока жизни клетки («молчащей»); 2) постоянно экспрессируемой и 3) индуцируемой гормонами или другими сигнальными молекулами либо прямо, либо опосредованно через метаболиты или неизвестные медиаторы. Ядерный хроматин содержит ДНК, белки, богатые аргинином и лизином (и потому имеющие щелочную реакцию), которые называют гистонами, и разнообразные негистоновые кислые белки. Гистоны играют основную роль в обеспечении плотности упаковки ДНК и, следовательно, ее доступности для транскрипции и гормональной индукции. Описаны кислые белки, специфичные для данной ткани и данного гормон-рецепторного комплекса, но все еще нет окончательной уверенности в том, что именно они направляют комплексы [С·Р] к определенным транскрибируемым участкам ДНК, хотя это и представляется вероятным. Основной вопрос механизма действия любого гормона, будь то стероид или нестероид, заключается в следующем: каким образом факторы, определяющие дифференцировку гормон-чувствительной клетки, придают хроматину именно ту конформацию, которая позволяет ему реагировать на данный гормон?

Имеются надежные данные о том, что стероиды, введенные животным или добавленные к гормон-чувствительным клеткам, увеличивают концентрацию мРНК индуцируемых белков. Это было установлено в результате определения концентрации мРНК двумя различными методами: 1) путем выделения фракции мРНК из стимулированных и нестимулированных тканей с

последующим тестированием отдельных мРНК в реконструированной бесклеточной системе трансляции, где лимитирующим компонентом являлась именно мРНК; 2) путем получения данной мРНК в очищенном виде, синтеза на ней радиоактивной комплементарной ДНК (кДНК) с помощью фермента обратной транскриптазы, выделения ее и определения исследуемой мРНК из контрольной и стимулированной тканей по степени гибридизации с этой кДНК. С помощью подобных методов было установлено, что в ответ на действие андрогенов, эстрогенов, глюкокортикоидов и экдизона во многих тканях-мишенях возрастает содержание различных мРНК.

Увеличение концентрации мРНК могло бы определяться ускорением ее транскрипции, замедлением деградации или обоими процессами сразу. Под действием гормонов наблюдалось увеличение периода полужизни некоторых мРНК; напротив, ликвидация гормонального стимула укорачивала период их полужизни. Чтобы оценить относительную роль стимуляции синтеза мРНК и стабилизации зрелой мРНК в увеличении ее содержания, в изолированных клеточных ядрах животных, получавших гормон, регистрировали скорость синтеза мРНК в условиях, исключающих инициацию транскрипции и посттранскрипционный процессинг. Во всех случаях в ядрах клеток, контактирующих с гормоном, обнаруживали резкое повышение (часто во много тысяч раз) ранее инициированного синтеза мРНК. Хотя стабилизация специфической мРНК, несомненно, играет роль в увеличении ее концентрации под влиянием гормона, но *в основном* это происходит в результате повышения скорости транскрипции. Согласно одной из гипотез, увеличение периода полужизни мРНК в клетках под влиянием гормона обусловлено ее стабилизацией большим количеством рибосом, образующихся в данных условиях.

Каким-то пока неизвестным образом [С·Р] взаимодействует со специфическими участками ДНК так, что это дает возможность ферменту РНК-полимеразе II вступить в контакт с доменами, избирательно контролирующими скорость синтеза определенных мРНК. Отдельные гены, которые «включаются» стероидами, могут быть расположены линейно или локализоваться на разных хромосомах. Хотя природа «системы наведения» [С·Р] точно на те участки генома, в которых этот комплекс сможет осуществить свою функцию, неизвестна, все же в отдельных случаях получены интересные данные. Относительно давно было показано существование специфических для гормона и ткани-мишени кислых белков, способных предпочтительно связывать гормон-рецепторные комплексы. Например, один такой белок мог связывать прогестерон-рецепторный, но не андроген-рецепторный, комплекс, тогда как аналогичный белок

хроматина предстательной железы обнаруживал противоположные свойства.

В частном случае прогестерона рецептор представляет собой димер, состоящий из двух разных субъединиц; субъединица А связывается с ДНК, а В — с кислым белком. Теоретически субъединица В могла бы связываться с белком, находящимся вблизи специфического участка транскрипции, где после диссоциации рецептора свободная субъединица А связывалась бы с определенной нуклеотидной последовательностью ДНК. Однако последние данные о мономерном прогестерон-связывающем белке у кроликов (Loosfelt) свидетельствуют о том, что асимметрический рецептор прогестерона, по-видимому, характерен только для птиц. Не исключено, что единая рецепторная молекула содержит разные домены, связывающиеся с ДНК и белком, что придает мономерному белку свойства, приписываемые димерному рецептору прогестерона птиц.

Значительный интерес вызвали последние исследования в этой области. Как это ни удивительно, но поводом к ним послужило наблюдение о стимулирующем влиянии глюкокортикоидов надпочечников на репликацию вируса опухоли молочных желез мышей (MMTV), инокулированного животному. Творчески применив методику рекомбинантных ДНК, удалось идентифицировать участок начала транскрипции ДНК вирусного генома (в пределах длинного концевого повтора — LTR — слева от промоторного участка). Очищенный глюкокортикоидный рецептор крысы предпочтительно связывается с этой богатой аденином и тимином (AT) последовательностью и защищает ее от действия нуклеаз. В химерной плазмиде, содержащей данную последовательность слева от гена, который в норме не активируется глюкокортикоидами, этот ген приобретает способность активироваться гормоном.

Аналогичные эксперименты проводились с прогестероном. В этом случае, как и в опытах с MMTV, способный реагировать на гормон участок ДНК и богатая AT последовательность, предпочтительно связывающая рецептор, были обнаружены в одной области генома. Контролируемый гормоном участок отличается от промотора, т. е. от области начала транскрипции (рис. 2-2). На основании его влияния на транскрипцию он идентифицирован как *энхансер*. Однако сайты предпочтительного связывания рецептора были обнаружены и в *транскрибируемых* областях генома, и на значительном расстоянии (влево) от «энхансерного» участка. Функциональная роль этих связывающих областей неизвестна.

Позднее участки, связывающие гормон-рецепторный комплекс, были найдены в *ядерном матриксе*, т. е. в своего рода белковом скелете ядра. Имеются некоторые данные, указывающие

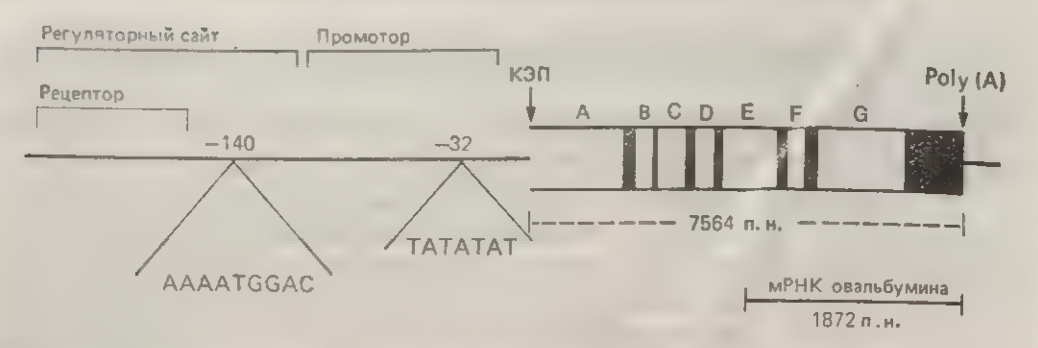


Рис. 2-2. Структура гена овальбумина. Обозначенные буквами участки гена представляют собой интроны. В состав мРНК, включающей 1872 нуклеотида, входят только транскрипты экзонов (обозначены черным). [С·Р] избирательно связывается с участком, названным «рецептор». [По Schrader W. T., Compton J. G., O'Malley B. W. (1983). In: Eriksson H., Guftafsson J. A. (eds). Steroid Hormone Receptor: Structure and Function (Nobel Symposium, N 57), New York, Elsevier North-Holland, Inc., p. 310. Воспроизведено с разрешения.]

на возможность активного синтеза РНК преимущественно в ассоциированных с матриксом участках хроматина. Роль ядерного матрикса в стимуляции синтеза РНК гормон-рецепторным комплексом пока неизвестна.

Избирательная инициация транскрипции

Несмотря на доказательства связывания комплексов [С·Р] со специфическими кислыми белками и определенными последовательностями ДНК, молекулярные «последствия» такого связывания остаются неизвестными. По аналогии с тем, что происходит в стимулированных экдизоном хромосомах слюнных желез, можно полагать, что основной эффект [С·Р] сводится к разрыхлению конденсированного хроматина и его деспирализации, в результате которых открывается доступ к нему молекул РНК-полимеразы II. Действительно, одним из результатов действия эстрогенов и глюкокортикоидов является повышение чувствительности ДНК к ДНКазе I по сравнению с той, которая характерна для области генома, открытой для транскрипции. Это не означает, что [С·Р] или связанный с ним белок сами не могут выполнять каталитическую функцию в инициации транскрипции и их роль ограничивается только «расплетанием» хромомеров.

До сих пор под первичным действием гормон-рецепторного комплекса на синтез РНК подразумевается действие лишь на *информационную* РНК. Однако через некоторое время в последовательность событий, индуцируемых [С·Р], вовлекается стимуляция синтеза как *рибосомных*, так и *транспортных* РНК. Хотя о механизмах этих процессов известно мало, эксперименты с эстрогенами и глюкокортикоидами свидетельствуют о том,

что в отличие от стимуляции синтеза мРНК для увеличения синтеза рРНК необходим синтез белка. Резонно предположить поэтому, что *до* проявления *вторичных* эффектов на уровне рРНК и тРНК в клетке должен накопиться какой-то белковый продукт, синтез которого опосредован мРНК.

Транспорт мРНК, рРНК и тРНК в цитоплазму: трансляция специфического для данной клетки набора белков

К наиболее ранним биологическим эффектам эстрогенов относится накопление воды и электролитов в клетке и усиленное поглощение ею глюкозы и аминокислот. Вследствие этого вновь синтезированные типы РНК по мере перемещения из ядра в цитоплазму встречают там благоприятную среду. Необходимые для *трансляции* новых мРНК ГТФ и аминокислоты в избытке присутствуют в цитоплазме. Кроме того, как предположил Лиао (Liao), андрогены посредством какого-то механизма, не затрагивающего транскрипцию, стимулируют появление *фактора инициации трансляции.* Хотя нам неизвестны аналогичные данные в отношении других стероидных гормонов, гипотеза о «всеобщности» этого эффекта очень привлекательна и заслуживает проверки.

Посттрансляционные модификации белков

Многие из белков, синтезируемых клетками под действием стероидных гормонов, например компоненты плазматической мембраны или продукты секреции, являются гликопротеинами. В клетках и тканях, стимулированных стероидными гормонами, элементы метаболических реакций, приводящих к синтезу гликопротеинов, в частности, ответственных за перенос углеводного ядра (долихофосфатный путь), активируются координированно с другими процессами. Согласно Лукасу и др., (Lucas et al.) один из наиболее ярких примеров подобного действия стероидных гормонов имеет место в стимулированных эстрогенами клетках яйцевода цыпленка.

Влияние эстрогенов на ДНК и клеточный цикл

Давно известно, что эстрогены вызывают гипертрофию и увеличивают митотическую активность клеток матки. С помощью ^3H-тимидина и радиоавтографии было показано, что введение эстрогенов резко увеличивает митотическую активность и других чувствительных клеток. Время генерации клеток уменьшалось с 42 до 26 ч в основном за счет уменьшения продолжительности стадий G_1 и S клеточного цикла. В матке неполово-

зрелых крыс все клеточные элементы обнаруживают пик митотической активности между 24 и 48 ч после однократного введения эстрадиола, но эффект наиболее выражен в эпителиальных клетках (Kaye et al.).

Последние исследования (см. Walker et al.) показали, что стимуляция синтеза ДНК в незрелой матке крыс тесно коррелирует с повышением активности одной из трех известных ДНК-полимераз, а именно α. Наиболее резкое повышение активности этого фермента регистрируется между 12 и 24 ч после введения эстрадиола. Подобное действие эстрогенов проявляется на более поздних стадиях развития, поскольку полная стимуляция ДНК-полимеразы α наблюдается лишь после 20-го дня постнатального периода.

Для объяснения связи между ранними и поздними эффектами эстрогенов предложены две общие гипотезы: 1) теория «домино» и 2) теория «непрерывного действия» (Gorski). Согласно теории «домино», эстроген-рецепторный комплекс вначале повышает синтез нескольких типов мРНК, которые транслируются с образованием новых белков. Эта реакция в свою очередь вызывает другую волну избирательного синтеза белка. Наиболее полное действие эстрогена — т. е. изменение ростовой и митотической активности клеток — наступает после прохождения определенного числа таких волн. Последовательный характер появления вздутий на хромосомах слюнной железы мухи под действием экдизона убедительно свидетельствует в пользу именно такого протекания реакции. Считают, что наиболее рано появляющийся индуцированный белок (ИБ) играет важную, хотя и неизвестную пока роль в инициации ответной реакции на действие эстрогенов.

Многие наблюдения не полностью согласуются с теорией «домино». Например, эстрадиол и эстриол обладают равной способностью вызывать *ранние* эффекты (синтез РНК, водная имбибиция матки, окисление глюкозы), но эстриол в три раза слабее, чем эстрадиол, стимулирует синтез ДНК (через 24 ч) и увеличение массы матки (через 24—72 ч). Таким образом, ранние реакции необязательно определяют поздние. Более того, если вначале (нулевое время) ввести эстриол, а через 6 ч эстрадиол, то поздние реакции (через 24 ч) будут точно такими же, как если бы в нулевое время вводили эстрадиол.

Кларк и др. (Clark et al.) предположили, что, поскольку эстриол задерживается маткой слабее, чем эстрадиол, именно время присутствия стероида в ядре определяет «непрерывность» его действия. Поздние эффекты эстриола выражены не так ярко потому, что его комплекс с рецептором удерживается ядром меньшее время, чем требуется для инициации и развития реакции. За 2—10 ч нельзя достоверно зарегистрировать

повышение синтеза ДНК. Согласно гипотезе «непрерывного действия», инициация поздних эффектов требует не только синтеза РНК и накопления специфических белков на раннем этапе реакции (в течение первого часа), но и *непрерывного присутствия* гормон-рецепторного комплекса в ядре на протяжении критического периода, выходящего за рамки ранних реакций.

Можно ли объяснить все эффекты стероидов усилением транскрипции?

Многие эффекты стероидов проявляются слишком быстро, чтобы их можно было объяснить только стимуляцией транскрипции генов. Например, Сего и Пьетрас (Szego, Pietras) показали, что ряд эстрогенных эффектов в матке регистрируется уже через нескольких минут после введения эстрадиола. К ним относятся связывание эстрадиола с плазматической мембраной, высвобождение гистамина, отток кальция, ускорение транспорта глюкозы и аминокислот, образование из плазматической мембраны микропиноцитозных пузырьков, высвобождение некоторых лизосомных ферментов, а также транслокация лизосомоподобных пузырьков в ядро. Эти исследователи считают, что эстрогены связываются рецепторами, ассоциированными не только с ядром, но и с мембранами клетки, митохондрий и лизосом. Идентичны ли эти связывающие участки подобно изученным «внутренним» рецепторам — неизвестно.

Хотя и опасно пытаться свести 300-страничную монографию этих авторов к лаконичному утверждению, но все же они полагают, что эстрогены оказывают быстрое действие на все три типа мембран и что изменения мембран, вызываемые моментальным связыванием эстрогенов, определяют некоторые из перечисленных выше ранних эффектов. Важнейшей стороной гипотезы Сего и Пьетраса является *контролируемое высвобождение лизосомных ферментов* в качестве одного из механизмов, посредством которых эстрогенная стимуляция распространяется на все части клетки, включая ядро. Хотя эти авторы и не расшифровали точных механизмов, но считают, что высвобождение гистамина и изменения транспорта глюкозы и аминокислот обусловлены местным выбросом «микроквантов» лизосомных ферментов. Миграция лизосом в ядро может быть условием стимуляции транскрипции, поскольку избирательная анаболическая активность усиленно транскрибируемых генов должна сопровождаться, очевидно, параллельным повышением катаболической активности ядра.

Эти интересные и перспективные идеи лишь дополняют, но никоим образом не умаляют значимости выдающихся достижений молекулярно-биологического подхода к анализу меха-

низма действия стероидных гормонов. Координированное, взаимосвязанное и плейотропное действие эстрогенов включает немедленные и быстро распространяющиеся эффекты, дополняющие (и обусловливающие) наиболее отчетливые влияния на ту регуляцию экспрессии генов, которой последние 15 лет уделяют внимание многие исследователи стероидных гормонов.

Другим примером быстрого стероидного эффекта может служить немедленное торможение глюкокортикоидами секреции АКТГ гипофизом. Ингибирование гипоталамо-гипофизарной кортикотропной системы по механизму отрицательной обратной связи осуществляется в двух временны́х диапазонах: в течение нескольких минут и в течение часов и суток. Первый эффект не требует действия гормона на уровне транскрипции или трансляции, тогда как для второго необходимо торможение синтеза предшественника АКТГ проопиомеланокортина на уровне транскрипции. Механизм быстрого торможения неизвестен, но предполагается, что оно обусловлено остановкой экзоцитоза пептидных гормонов из АКТГ-продуцирующих клеток.

В гл. 3 будут рассмотрены механизмы действия гормонов, относящихся к классу пептидов и аминов, биологические эффекты которых предположительно инициируются связыванием с рецепторами плазматической мембраны. Одно время считалось, что стероиды, время действия которых развертывается в течение часов и суток, проникают в клетку и избирательно стимулируют транскрипцию генов, тогда как пептидные гормоны действуют (в течение минут) на мембрану клеток, стимулируя образование молекул второго посредника (первый — гормон), которые затем распределяются в клетке и обусловливают комплекс координированных реакций. Это было эвристически полезно и удобно с точки зрения преподавания, но в действительности дело обстоит намного сложнее.

Прежде всего, как эстрогены, так и андрогены вызывают быстрое увеличение содержания цАМФ в некоторых чувствительных клетках. Более того, отдельные эффекты андрогенов на синтез ферментов могут быть воспроизведены циклическим АМФ (Singhal). Поэтому нельзя исключить, что некоторые из ядерных изменений, возникающих после введения эстрогенов и андрогенов, обусловлены действием цАМФ-зависимых протеинкиназ (см. гл. 3). Кроме того, и другой посредник, опосредующий эффекты многих пептидных гормонов, а именно Ca^{2+}, наверняка участвует в механизмах действия андрогенов и эстрогенов, поскольку играет важнейшую роль в регуляции клеточного деления.

Еще более стирает грань между двумя рабочими моделями то обстоятельство, что многие пептидные гормоны (тропины, ростовые факторы, инсулин, глюкагон и т. п.) избирательно

влияют на транскрипцию генов, либо стимулируя, либо тормо-
зя ее. Они вместе со своими рецепторами подвергаются интер-
нализации с помощью пиноцитоза, хотя в настоящее время не-
известно, играет ли интернализация гормон-рецепторного комп-
лекса какую-либо роль в регуляции экспрессии генов. Наибо-
лее вероятно, что данные гормоны влияют на экспрессию генов
через сложную систему вторых посредников (см. гл. 3). Они не
только оказывают существенное влияние на экспрессию генов в
неделящихся клетках, но некоторые из них стимулируют и кле-
точное деление, напоминая тем самым стероиды с их долговре-
менными эффектами. Обе модели, когда-то весьма различные,
в настоящее время, по-видимому, перекрывают друг друга, при-
чем специалисты как в области стероидов, так и в области пеп-
тидов (не говоря уже о тиреоидологах — см. гл. 10) пользуются
сходными идеями и методическими приемами.

Гормоны и дифференцировка

Стероидные и тиреоидные гормоны не только стимулируют полностью дифференцированные клетки, но и играют важную роль в процессах *дифференцировки*. Андрогены определяют развитие мужских половых органов у плода. Тиреоидные гормоны необходимы для развития ЦНС. Стимуляцию дифференцировки эстрогенами удобно проследить на яйцеводе цыплят, где в ответ на действие гормона образуются клетки трех разных типов: клетки трубчатых желез, бокаловидные клетки и реснитчатые. Железистые клетки являются источником овальбумина. В условиях ингибирования синтеза ДНК гидроксимочевиной эстрадиол не вызывает дифференцировки.

Примером последовательной дифференцировки могут служить бокаловидные клетки: они дифференцируются под действием эстрадиола, но не секретируют характерный для них белковый продукт — авидин — до тех пор, пока не подвергнутся повторной стимуляции прогестероном. Более того, эстрогены индуцируют появление рецепторов прогестерона.

Хотя эти гормональные эффекты весьма отчетливы, но убе-
дительно объяснить их молекулярный механизм пока невозмож-
но. Исследования гормональной регуляции дифференцировки
будут способствовать лучшему пониманию этого процесса.

Пример из медицинской практики

Фундаментальные представления о рецепторах эстрогенов
нашли быстрое применение в лечении больных раком молочной
железы. Было известно, что некоторые виды раковых клеток
сохраняют определенную чувствительность к гормонам, регу-

лирующим их активность до перерождения. «Лишение» опухолевых клеток эстрогенов либо путем хирургического удаления эндогенных источников эстрогенов, либо путем введения антагониста этих стероидов часто приводит к ремиссии заболевания. После разработки методов определения концентрации рецепторов эстрогенов (РЭ) в опухолевой ткани было показано, что: 1) отдельные опухоли резко отличаются друг от друга по концентрации РЭ (от 10 до 1000 фмоль на 1 мг тканевого белка); 2) имеется тесная корреляция между содержанием РЭ и вероятностью ремиссии после удаления эстрогенов. В целом ремиссия чаще наступает у тех больных, опухолевые клетки которых отличаются высокой плотностью рецепторов. Поскольку опухоли состоят из неоднородных клеток, то удаление эстрогенов сохраняет те из них, которые индифферентны по отношению к этим гормонам. Когда количество таких клеток начинает преобладать, ремиссия заканчивается (Heuson et al.).

Литература[1]

Anderson J. N. (1984). The effect of steroid hormones on gene transcription. In: Goldberger R. F., Yamamoto R. F. (eds.). Biological Regulation and Development, vol. 3B, Hormone Action, New York, Plenum Publishing Corp., 169—212.

Auricchio F., Migliaccio A., Castoria S. et al. (1984). Estrogen receptor hormone activity is regulated by phosphorylation-dephosphorylation of the receptor. In: Bresciani F. (ed.), Progress in Cancer Research and Therapy, vol. 31, New York, Raven Press, 49—62.

Bonner J. J. (1982). An assessment of the ecdysteroid receptor of Drosophila, Cell, 30, 7.

Chambon P., Dierich A., Gaub M. P. et al. (1984). Promoter elements of genes coding for proteins and modulation of transcription by estrogens and progesterone. In: Recent Progress in Hormone Research, vol. 40, New York, Academic Press, 1—42.

Compton J. G., Schrader W. T., O'Malley B. W. (1983). DNA sequence preference of the progesterone receptor, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 16.

Eriksson H., Gustaffson J. A. (eds.) (1983). Steroid Hormone Receptors: Structure and Function (Nobel Symposium No. 57), New York, Elsevier North-Holland, Inc.

Goldberger R. F., Yamamoto K. R. (eds.) (1984). Biological Regulation and Development: Hormone Action, vols 3A and 3B, New York, Plenum Publishing Corp.

Gorski J., Welshons W., Sakai D. (1984). Remodelling the estrogen receptor model, Mol. Cell Endocrinol., 36, 11.

Grody W. W., Schrader W. T., O'Malley B. W. (1982). Activation, transformation, and subunit structure of steroid hormone receptors, Endocr. Rev., 3, 141.

Gronemeyer H., Pongs O. (1980). Localization of ecdysterone on polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 2108.

Heuson J. C., Longeval R., Mattheum W. H. et al. (1977). Significance of quantitative estrogen receptors for endocrine therapy in advanced breast cancer, Cancer, 39, 1971.

[1] См. примечание на с. 40.

Heuson J. C., Coune A. (1981). Hormone-responsive tumors. In: Felig P., Baxter J. D., Broadus A. E. et al. (eds.). Endocrinology and Metabolism, New York, McGraw-Hill Book Co, 1275—1303.
Jensen E. V., Greene G. L., Closs L. E. et al. (1981). Receptors reconsidered. A 20-year perspective. In: Recent Progress in Hormone Research, vol. 37, New York, Academic Press, 1—40.
King W. J., Greene G. L. (1984). Monoclonal antibodies localize oestrogen receptor in the nuclei of target cells, Nature, 307, 745.
Lee F., Mulligan R., Berg P. et al. (1981). Glucocorticoids regulate expression of dihydrofolate reductase cDNA in mouse mammary tumor virus chimaeric plasmids, Nature, 228,
Liao S., Chang C., Saltzman A. G. (1983). Androgen-receptor interaction — An overview. In: Eriksson H., Gustaffson J. A. (eds.), Steroid Hormone Receptors: Structure and Function, New York, Elsevier North-Holland, Inc., 407—418.
Loosfelt H., Logeat F., Hai M. T. V. et al. (1984). The rabbit progesterone receptor: Evidence for a single steroid-binding subunit and characterization of receptor RNA, J. Biol. Chem., 259, 14146.
McGuire W. L., Horwitz K. B., Zava D. T. et al. (1978). Hormones in breast cancer, Update 1978, Metabolism, 27, 487.
Nevins J. R. (1983). The pathway of enkaryotic mRNA formation, Ann. Rev. Biochem., 52, 441.
O'Malley B. W. (1984). Steroid hormone action on eukaryotic cells, J. Clin. Invest., 74, 307.
Renoir J. M., Mester J. (1984). Chick oviduct progesterone receptor: Structure, immunology and function, Mol. Cell Endocrinol., 37, 1.
Rousseau G. G. (1984). Control of gene expression by glucocorticoid hormones, Biochem. J., 224, 1.
Spelsberg T. C. (1982). Chemical characterization of nuclear acceptors for the avian progesterone receptor. In: Litwack G. (ed.), Biochemical Actions of Hormones, vol. 9, New York, Academic Press, 141—204.
Szego C., Pietras R. J. (1984). Lysosomal function in cellular activation. Propagation of the actions of hormones and other effectors. In: Bourne G. H., Danielli J. F., Leon J. W. (eds.), International review of Cytology. vol. 88, New York, Academic Press.
Walker M. D., Kaye A. M., Fridlander B. R. (1978). Age-dependent stimulation by estradiol 17β of DNA polymerase in immature rat uterus, FEBS Lett, 92, 25.
Yamamoto K. R. (1983). On steroid regulation of gene expression and the evolution of hormone-controlled gene networks. In: Eriksson H., Gustafsson J. A. (eds.). Steroid Hormone Receptors: Structure and Function, New York. Elsevier North-Holland, Inc., 285—306.

Глава 3

Внутриклеточные системы, участвующие в механизмах действия пептидных гормонов: циклический АМФ, кальций и метаболиты фосфатидилинозитола

Пептидные гормоны, амины и нейромедиаторы в отличие от стероидов — гидрофильные соединения и не способны легко проникать через плазматическую мембрану клетки. Они, как

правило, взаимодействуют с расположенными на поверхности клетки мембранными рецепторами и не должны подвергаться эндоцитозу, чтобы вызвать определенные эффекты. Гормон-рецепторное взаимодействие инициирует высококоординированную биологическую реакцию, в которой могут участвовать многие клеточные компоненты, причем некоторые из них расположены на значительном расстоянии от плазматической мембраны. В этой главе мы рассмотрим следующие вопросы: каким образом активация рецептора определенным гормоном трансформируется в сложную биологическую реакцию? Каким образом «весть» о взаимодействии рецептора со своим гормоном распространяется по всей клетке?

Циклический АМФ (цАМФ) — первое соединение, которое открывший его Сазерленд (Sutherland) назвал «вторым посредником». Сазерленд использовал этот термин потому, что «первым посредником» считал сам гормон, вызывающий внутриклеточный синтез «второго посредника», который опосредует биологический эффект первого. В течение ряда лет основное внимание уделялось именно цАМФ, который рассматривали как *единственный* второй посредник, хотя уже и в то время было известно, что важную роль в мышечном сокращении и секреции адреналина играют ионы кальция (Ca^{2+}). Расмуссен (Rasmussen) одним из первых предположил, что для некоторых гормонов именно ионы Ca^{2+} выполняют роль второго посредника. Тем временем Мичел (Michell) и другие авторы начали исследовать зависимость ряда опосредуемых Ca^{2+} гормональных эффектов от кругооборота фосфатидилинозитола (ФИ). Последние работы подтвердили роль фосфолипидов как предшественников по крайней мере двух вторых посредников, принимающих важное участие в механизмах действия гормонов и нейромедиаторов.

Таким образом, в настоящее время можно назвать не менее трех типов вторых посредников: 1) циклические нуклеотиды (например, цАМФ и, возможно, цГМФ); 2) ионы Ca^{2+} и 3) метаболиты ФИ. Все они находятся в очень сложном взаимодействии, и можно с уверенностью предсказать существование и других аналогичных веществ.

С помощью таких систем относительно небольшое число молекул гормона, связываясь с рецепторами, вызывает продукцию гораздо большего числа молекул второго посредника, а последние в свою очередь влияют (положительно или отрицательно) на активность еще большего числа белковых молекул. Таким образом, происходит прогрессивная *амплификация* сигнала, исходно возникающего при связывании гормона с рецептором.

Кстати, специалисты в этой области вновь продемонстриро-

вали плодотворность изучения действия гормонов для развития общебиологических представлений. Идея об обратимом фосфорилировании ключевых белков как важном механизме регуляции метаболизма, впервые возникшая при исследовании цАМФ, получила широкое распространение в биологии, включая и некоторые аспекты биологии злокачественных опухолей. Значение ГТФ как аллостерического регулятора активности белков (основной вывод из результатов исследований синтеза цАМФ, управляемого гормон-рецепторным взаимодействием) было подтверждено в таких, казалось бы, различных областях биологии, как биохимия сетчатки и регуляция процесса трансляции мРНК на рибосомах.

Открытие циклического АМФ

Циклический АМФ (3′,5′-аденозинмонофосфат) был обнаружен Сазерлендом в ходе работ по выяснению механизма стимуляции гликогенолиза под действием адреналина. К началу

Рис. 3-1. Реакции, катализируемые аденилатциклазой и фосфодиэстеразой.

Таблица 3-1. Некоторые биологические эффекты 3′,5′-циклического АМФ

Процесс	Примеры
Проницаемость мембран, ионы	Нервные клетки, мышечные клетки, сетчатка глаза и т. д.
Проницаемость мембран, вода	Почка, мочевой пузырь и кожа жабы
Синтез стероидных гормонов	Кора надпочечников, желтое тело, клетки Лейдига
Секреторные реакции	Экзокринные железы (поджелудочная, слюнные), щитовидная железа, инсулин, желудочная HCl, гипофиз
Гидролиз триацилглицеролов и эфиров холестерола	Жировые клетки, печень, стероидпродуцирующие клетки, мышцы
Торможение липогенеза	Печень, жировые клетки
Перемещение внутриклеточных структур	Распределение меланофоров, подвижность спермы, сохранение клеточных отростков (фибробласты), миграция лизосом
Стимуляция гликогенолиза, торможение гликогенеза	Печень, жировые клетки, мышцы
Стимуляция глюконеогенеза	Печень, почка
Транскрипция генов	Микроорганизмы (lac-оперон); индукция ферментов, печень плода
Синтез белка, трансляция	Катаболический эффект (печень), избирательный синтез белка (кора надпочечников)
Подвижность и агрегация, одноклеточные организмы	Агрегация клеток слизевиков

исследований (около 1950 г.) последовательность реакций гликогенолиза в печени уже была установлена супругами Кори и др.: Гликоген⟶Глюкозо-1-PO_4 (*фосфорилаза*); Глюкозо-1-PO_4⟶Глюкозо-6-PO_4 (*фосфоглюкомутаза*); и Глюкозо-6-PO_4⟶Глюкоза+$Ф_н$ (*глюкозо-6-фосфатаза*). Вначале было показано (Sutherland, C. Cori), что именно первая реакция лимитирует скорость всего процесса. Затем Уозилейт (Wosilait) и Сазерленд установили, что фермент фосфорилаза в активном состоянии фосфорилирован, а в неактивном — дефосфорилирован.

После выяснения того обстоятельства, что адреналин и глюкагон активируют фосфорилазу в срезах печени, эти гормональные эффекты были воспроизведены и на разрушенных клетках. Таким образом, впервые было получено надежное доказательство действия гормона не только на интактную клетку.

При анализе различных фракций, полученных при центрифугировании гомогената печени, на их способность активировать фосфорилазу в присутствии адреналина, было обнаружено, что во фракции тяжелых частиц при добавлении АТФ (аденозин-

трифосфата) и ионов Mg^{2+} образуется термостабильное вещество, активирующее фосфорилазу, которая содержится в лишенном частиц супернатанте. После выделения и очистки этого вещества оказалось, что оно представляет собой 3′,5′-АМФ (рис. 3-1). В удивительно короткое время был обнаружен фермент, катализирующий образование цАМФ из АТФ в присутствии Mg^{2+}. Он получил название *аденилатциклазы*. Примерно в то же время был обнаружен и фермент, ответственный за инактивацию цАМФ путем превращения его в 5′-АМФ. Этот фермент был назван *фосфодиэстеразой*. Далее было установлено, что соединения фтора стимулируют активность аденилатциклазы в препаратах разрушенных, но не интактных клеток. Читатель, интересующийся историей открытия цАМФ, может найти подробности в лекции Сазерленда, прочитанной по случаю вручения ему Нобелевской премии и освещающей состояние этой проблемы в момент ее зарождения в конце 50-х годов.

Разнообразие биологических процессов, на которые влияет циклический АМФ

На смену изучению гликогенолиза в печени пришли опыты Хейнса и Бертета (Haynes, Berthet), показавшие, что стимуляция продукции стероидных гормонов в надпочечниках под действием АКТГ опосредуется «вторым посредником», открытым Сазерлендом. Далее было установлено, что цАМФ тем или иным образом опосредует действие гипофизарного ЛГ, антидиуретического гормона (АДГ), паратиреоидного гормона (ПТГ), тиреотропного гормона (ТТГ) и гипоталамических рилизинг-факторов. Более того, выяснилось, что цАМФ влияет на индуцируемую глюкозой секрецию инсулина, а действие инсулина на некоторые ткани сопровождается *снижением* в них концентрации цАМФ. Оказалось, что и дерепрессия lac-оперона у микроорганизмов, лишенных глюкозы, зависит от цАМФ.

Разнообразие *биологических эффектов* многих гормонов и других факторов, действующих через систему цАМФ, весьма внушительно. В табл. 3-1 приведены характерные примеры подобных эффектов. Она должна послужить иллюстрацией того положения, что «конечный продукт» реакции — биологический эффект — широко варьирует от клетки к клетке, несмотря на сходство фундаментальных основ данной реакции.

Сазерленд и др. предложили схему действия гормонов, получившую всеобщее признание. В наиболее упрощенном виде гипотеза «второго посредника» может быть сведена к следующему:

1. Гормон+стереоспецифический рецептор.
2. Активация аденилатциклазы.
3. Образование цАМФ.
4. Обеспечение цАМФ координированной реакции.

Грингард и др. (Greengard et al.) во многих тканях обнаружили цАМФ-зависимую протеинкиназную активность и пришли к выводу, что конечный эффект цАМФ определяется его регуляторным влиянием на структуру и функцию обратимо фосфорилируемых белков. Кребс, Уэлш (Krebs, Walsh), а также многие другие авторы систематически изучали роль цАМФ-активируемых протеинкиназ в фосфорилировании отдельных белков. В результате появилась возможность построить общую модель опосредуемых цАМФ гормональных эффектов (рис. 3-2). Хотя эта модель в целом полезна и до сих пор, нельзя забывать, что многие ее элементы остаются нераскрытыми.

Критерии роли циклического АМФ в биологических реакциях

В начале «эры» цАМФ Сазерленд и др. выработали критерии, на основе которых устанавливается участие этого соединения в ответе клетки на химическую стимуляцию.

1. Химический агент должен стимулировать активность аденилатциклазы в препаратах чувствительной ткани.
2. В ответ на действие химического агента должна возрастать концентрация цАМФ в ткани.
3. Косвенное доказательство участия цАМФ в реакции — потенцирование гормонального эффекта ингибиторами фосфодиэстеразы.
4. Доказательство опосредующей роли циклического нуклеотида в гормональном эффекте — воспроизведение эффекта гормона с помощью цАМФ или его дибутирилового производного (дбцАМФ).
5. Повышение концентрации цАМФ в ткани под влиянием гормона должно *предшествовать* регистрируемой биологической реакции (например, мышечному сокращению, гликогенолизу, липолизу); это позволяет считать цАМФ потенциальным медиатором этой реакции.

Хотя перечисленные критерии не потеряли свою актуальность, анализ некоторых биологических реакций (например, в клетках надпочечников, тестикулярных клетках Лейдига, клетках скелетных мышц) показал, что ответы на действие гормонов могут иметь место и без измеримых сдвигов в тканевой концентрации цАМФ, несмотря на участие компонентов его системы в механизме реакции. Это может иметь ряд объяснений, но чаще всего поль-

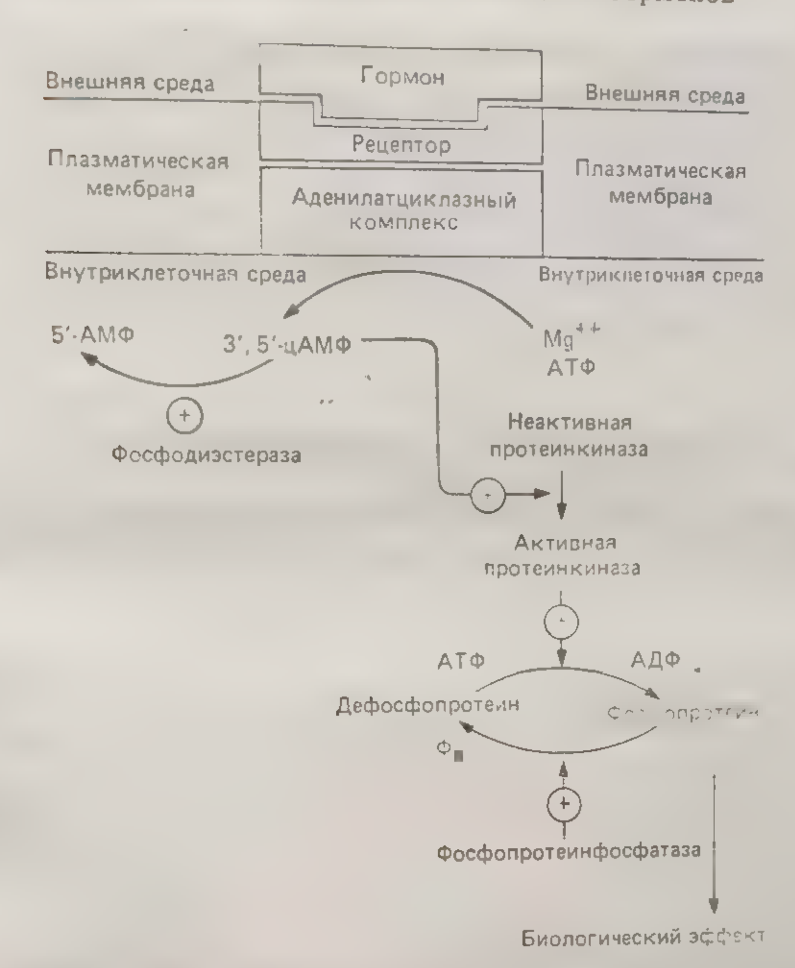


Рис. 3-2. Общая модель опосредуемых цАМФ реакций на гормоны.

зуются двумя из них: 1) возможны локальные, компартментализованные изменения концентрации цАМФ, не отражающиеся на его количестве в цельной ткани; и 2) возможно изменение (в обоих направлениях) чувствительности цАМФ-зависимой протеинкиназы к постоянной концентрации цАМФ. Таким образом, если под действием гормона образуется ингибитор протеинкиназы, то биологическая реакция будет напоминать ту, которую следует ожидать при снижении концентрации цАМФ в клетке. Пример подобной ситуации приведен в гл. 14.

Молекулярные компоненты системы регуляции с участием цАМФ

Толщина плазматической мембраны составляет 60—100 Å, и те амины и пептидные гормоны, которые действуют с помощью цАМФ, контактируют с наружной поверхностью мембраны. Вся оставшаяся часть данной главы посвящена описанию механизмов,

посредством которых этот внешний контакт вызывает биологическую реакцию. Например, АКТГ стимулирует клетки коры надпочечников к синтезу и секреции стероидных гормонов. Тот же гормон в адипоцитах усиливает гидролиз триацилглицеролов и продукцию свободных жирных кислот. В обоих процессах участвует система цАМФ. Каким же образом одна и та же молекула может опосредовать столь разнообразные биологические реакции множества типов клеток?

Взаимодействие гормона с рецептором

Получение гормонов, меченных радиоактивными изотопами, в значительной степени способствовало выяснению механизма связывания гормона рецептором. Связывание меченого гормона с поверхностью интактной клетки или более или менее очищенным препаратом плазматических мембран исследуют как в отсутствие, так и в присутствии большого избытка «холодного» (т. е. немеченого) гормона. «Специфичность» связывания определяют обычно по количеству радиоактивного гормона, вытесняемому немеченым. Получаемые данные можно обрабатывать различными способами, позволяющими оценить число клеточных гормон-связывающих участков, плотность рецепторов на поверхности клетки и $K_м$, т. е. концентрацию гормона (сродство), при которой связывающие участки оказываются наполовину насыщенными.

Рецептор должен обладать следующими свойствами:

1. Четкой структурной специфичностью.
2. Насыщаемостью (т. е. число связывающих сайтов должно быть конечным).
3. Тканевой специфичностью, совпадающей с реактивностью клеток-мишеней.
4. Сродством, которое укладывалось бы в пределы физиологических концентраций гормона.
5. Обратимостью действия, т. е. возможностью блокады связывания, которая должна приводить к обратимости биологического эффекта.

Структурная специфичность лежит в основе ответной реакции клетки-мишени. Ясно, что если клетка лишена дискриминатора, способного образовывать сильную нековалентную связь с молекулой гормона, то нельзя ожидать и развития ответной биологической реакции. Некоторые аналоги гормона могут связываться с гормональным рецептором, но при этом не способны вызывать биологическую реакцию. Такие вещества могут обладать высоким сродством и блокировать эффект гормона, препятствуя его доступу к рецептору.

Препятствовать взаимодействию гормонов со своими специфическими рецепторами могут не только искусственные аналоги, но и антитела к рецепторам. Флиер, Кан (Flier, Kahn) и др. недавно описали нескольких больных, у которых в крови присутствовали антитела к их собственным рецепторам инсулина (редкая форма инсулинорезистентного диабета). Антитела этих больных были использованы в исследовании биологии рецепторов.

Специфичность рецепторов плазматической мембраны и их сродство к определенным гормонам настолько велики, что мембранные препараты можно применять для определения концентрации гормона с помощью радиолигандного (радиорецепторного) метода, основанного на том же принципе, что и радиоиммунологический метод. Это удалось сделать для АКТГ (с использованием фракции мембран клеток надпочечника) и для ЛГ, или гормона, стимулирующего интерстициальные клетки (с использованием препаратов тестикулярных клеток Лейдига).

Рецепторы плазматической мембраны, занимающие центральное место в механизмах регуляции метаболизма гормон-чувствительных клеток, сами служат объектом быстрой и постоянной регуляции. Сродство рецептора к своему гормону может подвергаться изменениям, даже если общая популяция рецепторов остается неизменной.

Описана и долговременная, или хроническая, регуляция общего *числа* рецепторов на клеточной поверхности для инсулина, СТГ, ТРГ и β-катехоламинов. Подробнее всего, вероятно, хроническая регуляция изучена Ротом, Каном (Roth, Kahn) и др. применительно к популяции рецепторов инсулина. Эти авторы показали, что при ожирении (как в эксперименте, так и в клинике), для которого характерен высокий уровень инсулина в крови, концентрация рецепторов инсулина на поверхности чувствительных клеток снижается. После уменьшения массы тела и исчезновения гиперинсулинемии число рецепторов возрастает до нормы. Аналогичная *снижающая регуляция* числа рецепторов наблюдается и в лимфоцитах определенной линии in vitro. Иными словами, при повышении или снижении концентрации инсулина имеют место реципрокные изменения популяции рецепторов.

Эти данные иллюстрируют тот факт, что компоненты плазматической мембраны находятся в состоянии динамического равновесия. Рецепторы, подобно другим белковым и гликопротеиновым компонентам мембраны, непрерывно подвергаются деградации и замещению новыми. Предполагают, что длительная занятость большого числа рецепторов определенными гормонами способствует эндоцитозу и распаду этих рецепторов. Хотя значение снижающей регуляции выяснено не до конца, считается, что уменьшение числа рецепторов может защитить клетку от слишком интенсивной стимуляции при неадекватно высоком уровне

гормона. Снижение чувствительности к гормону (особенно в случае инсулина) определяется не только уменьшением числа гормональных рецепторов (см. гл. 15). Могут иметь место координированные изменения других компонентов мембраны (например, системы транспорта глюкозы), а также внутриклеточных, или постмембранных процессов.

Во многих случаях подробно изучалась связь между общим числом рецепторов и биологическим эффектом гормона. Исследователи, занимающиеся пептидными гормонами, единодушны в том, что *максимальный* биологический эффект может наблюдаться при концентрациях гормона, обеспечивающих занятость всего 5—10% общего числа специфических участков связывания. Это явление широко известно как феномен *резервных рецепторов.* Его значение не ясно. Не исключено, что некоторые из связывающих участков не контактируют с комплексом эффекторных молекул, обусловливающих проявление биологического эффекта. Возможно, что общее число рецепторов играет статистическую роль, облегчая действие гормона при низких его концентрациях. Кроме того, предполагают, что запасные рецепторы действуют как механизм локального концентрирования уровня гормона. В любом случае феномен запасных рецепторов характерен для действия многих аминов и пептидных гормонов.

Отличительные свойства отдельных рецепторов подробнее рассматриваются ниже, в частности в гл. 13 и 14.

Активация аденилатциклазы: разработка модели в 1960—1986 гг.

Вскоре после открытия цАМФ Сазерленд и Робинсон (Robinson) предложили простую модель:

1. Г (гормон) + Р (рецептор) + А (аденилатциклаза) ⟶ ↑цАМФ.

Предполагалось, что связывание гормона рецептором вызывает конформационные изменения Р, которые в свою очередь активируют А. Р и А представлялись регуляторными субъединицами, ассоциированными с каталитическими.

Родбелл, Бирнбаумер (Rodbell, Birnbaumer) и др. первыми усомнились в адекватности предложенной модели. На основании кинетических исследований мембран клеток печени они показали, что для активации А гормоном абсолютно необходим ГТФ. Вначале эти авторы предположили, что А содержит участок, аллостерически связывающий ГТФ, и каталитический центр, но их данные не позволяли сделать какие-либо выводы о механизме действия ГТФ. Тем не менее, значительно опережая события, они постулировали (по аналогии с электрическими цепями) сущест-

вование преобразующего элемента (*трансдуктора*), расположенного между Г·Р и А. Их модель можно представить следующим образом:

$$2.\ Г \cdot Р + Трансдуктор + А \xrightarrow{ГТФ} \uparrow цАМФ.$$

Важные успехи в этой области были достигнуты Томкинсом и др. (Tomkins et al.) с помощью генетического анализа аденилатциклазной системы в культуре клеток. Было известно, что стимуляция лимфоцитов катехоламинами вызывает их гибель, и это опосредуется цАМФ. Удалось выделить мутантные клетки мышиной лимфомы (S49), которые обычно выживали в присутствии летальных концентраций катехоламинов. Один из таких мутантных клонов cyc^- оказался способным связывать гормон и содержал нормальное количество А. Однако связывание гормона не приводило к повышению уровня цАМФ. Затем было установлено, что в таких мутантных клетках отсутствует третий белковый компонент системы, соответствующий трансдуктору в схеме Родбелла и называемый по-разному: N-белок или G-белок. Пфейффер (Pfeuffer), использовав солюбилизированные детергентом препараты клеточных мембран, показал, что этот белок отличается как от Р, так и от А. К этому времени модель приобрела следующий вид:

$$3.\ Г \cdot Р + G + А \longrightarrow \uparrow цАМФ.$$

Воедино сходились многие направления исследований. Важными оказались данные о механизме действия холерного токсина, продуцируемого *холерным вибрионом*. Было установлено, что холерный токсин стимулирует потерю жидкости и электролитов слизистой кишечника за счет необратимой активации А. Токсин содержит множество субъединиц, одна из которых (спустя примерно 60 мин после добавления) проникает в липидный бислой клеточных мембран. Оказалось, что специфические реакции клеток на холерный токсин во многих случаях осуществляются с помощью цАМФ в качестве второго посредника. Интересно, что этот токсин может стимулировать секрецию тиреоидных гормонов клетками щитовидной железы и стероидных гормонов — клетками надпочечников, а также распад триацилглицеролов с высвобождением свободных жирных кислот в жировых клетках.

В результате исследований Джилла, Воган (Gill, Vaughan) и др. было установлено, что липофильная субъединица холерного токсина представляет собой фермент АДФ-рибозилазу, который ковалентно присоединяет АДФ-рибозу к G-белку, тем самым необратимо активируя аденилатциклазную систему. Данный фермент стал инструментом для идентификации G-белка: этот белок

можно пометить радиоактивной АДФ-рибозой и таким образом отличить от Р и А. Ковалентно связанная АДФ-рибоза позволяет «следить» за этим белком в процессе очистки, завершающейся электрофорезом в полиакриламидном геле и радиоавтографией.

Меченый ГТФ также связывается с G-белком, но *не*ковалентно. Таким образом:

4. Г·Р + G·ГТФ + А ⟶ ↑цАМФ.

Считают, что белки системы, генерирующей цАМФ, растворены в липидном бислое клеточной мембраны; они не образуют прочных связей друг с другом, и их взаимодействие основано на конформационных изменениях, зависящих от присутствия или отсутствия гормона. Р ориентирован наружу, а к G-белку и А имеется доступ из цитоплазмы, поскольку ГТФ (необходимый для активации G-белка) и АТФ (предшественник цАМФ) образуются именно в ней.

Была принята следующая модель, описывающая не только активацию А, но и терминацию этого процесса:

5. а) Г + Р + G·ГДФ ⟶ Г·Р·G + ГДФ,
б) Г·Р·G + ГТФ ⟶ Г + Р + G·ГТФ,
в) G·ГТФ + А ⟶ ↑цАМФ + G·ГДФ.

Таким образом, «выключающим» систему сигналом служит гидролиз ГТФ. Для возобновления цикла ГДФ должен отсоединиться от G, что происходит при связывании гормона с Р, как указано в реакции 5а. Причиной необратимой активации А холерным токсином является то обстоятельство, что АДФ-рибозилирование G-белка препятствует гидролизу ГТФ.

Росс и Джильман (Ross, Gilman), Бирнбаумер и др. (Birnbaumer et al.) тщательно очистили G-белок и охарактеризовали его. G-белок, участвующий в активации А, оказался тримером, состоящим из следующих субъединиц:

α-субъединица, мол. масса 45 000

β-субъединица, мол. масса 35 000

γ-субъединица, мол. масса 8000

Шрам (Schramm), а также Росс и Джильман встраивали G-белок в не содержащие его мембраны и тем самым восстанавливали систему, реагирующую на гормон. Связывание гормона с рецептором приводило к диссоциации α- и β-субъединиц. Более крупная α-субъединица содержит участок, связывающий ГТФ, и другой, подвергающийся АДФ-рибозилированию под действием холерного токсина. Считают, что именно эта субъединица слу-

жит непосредственным активатором А. Функция γ-субъединицы неизвестна. Роль β-субъединицы будет рассмотрена ниже.

Параллельно с описанными событиями изучались и другие аспекты проблемы. Уже давно ряд исследователей, в частности Родбелл, обратили внимание на то, что некоторые факторы оказывают *ингибирующее* действие на аденилатциклазу и вызывают *снижение* концентрации цАМФ, особенно в том случае, когда она была повышенной. Примерами агонистов, *стимулирующих циклазу*, могут служить глюкагон, вазопрессин (через $ВП_1$-рецепторы), ЛГ, ФСГ, ТТГ и АКТГ. К факторам, *ингибирующим циклазу*, относятся опиоиды (экзо- и эндогенные), соматостатин, ангиотензин II и ацетилхолин (через мускариновые M_1-рецепторы).

Адреналин может как стимулировать (через β-рецепторы), так и ингибировать (через α_2-рецепторы) данный фермент. Каким же образом осуществляется такая двунаправленная регуляция цАМФ-генерирующей системы?

Ответ на этот вопрос кроется в рассмотренном выше строении G-белка. Серией столь же тонких исследований было установлено, что ингибирующая система включает тримерный белок, чрезвычайно похожий на G-белок, о котором мы уже говорили. *Стимулирующий* G-белок получил название $G_с$, а ингибирующий — $G_и$. Более того, оба белка имеют одинаковую субъединичную структуру — α, β и γ. β-Субъединицы $G_с$ и $G_и$ идентичны, но α-субъединицы несколько различаются. Молекулярная масса α-субъединицы $G_и$ составляет 41 000 (а не 45 000, как у $G_с$). При связывании рецептора агонистом оба белка диссоциируют на субъединицы. Эффект $G_и$ может быть описан следующим образом:

6. а) $Г + Р + G_и \cdot ГДФ \longrightarrow Г \cdot Р \cdot G_и + ГДФ$,
   б) $Г \cdot Р \cdot G_и + ГТФ \longrightarrow Г + Р + G_и \cdot ГТФ$,
   в) $G_и \cdot ГТФ + А \longrightarrow \downarrow цАМФ + G_и \cdot ГДФ$

(можно вернуться к уравнениям 5 и подставить индекс «с» у G-белка).

ГТФ «активирует» как $G_с$, так и $G_и$, т. е. «заставляет» $G_с$ стимулировать, а $G_и$ — ингибировать аденилатциклазу. Как это можно представить себе на молекулярном уровне? Согласно Джильману, $G_{с\alpha}$ в связанной с ГТФ форме является истинным стимулятором А, а гидролиз ГТФ происходит, вероятно, в процессе стимуляции. В то же время $G_{и\alpha}$ обладает лишь слабым ингибирующим эффектом. Отсюда автор заключает, что:

7. а) $Г + Р + G_и \cdot ГДФ \longrightarrow Г \cdot Р + G_{и\alpha} \cdot ГТФ + G_{и\beta}$,
   б) $G_{и\beta} + G_{с\alpha} + G_{с\beta} \longrightarrow G_{с\alpha} \cdot G_{с\beta}$.

Поскольку $G_с$ действует как стимулятор только в том случае, когда димер диссоциирует, избыток β-субъединиц (одинаковых

для обоих белков) переводит G_c в недиссоциированную форму по закону действующих масс. Эта гипотеза, несмотря на свою привлекательность, принимается не всеми авторами.

Говоря о тонком равновесии между G_c и $G_и$, следует упомянуть о том, что выяснению функции $G_и$ помогло обнаружение бактериального токсина, специфически влияющего на этот белок. Точно так же, как холерный токсин сыграл значительную роль в идентификации G_c и выяснении механизма его действия, коклюшный токсин оказал существенную помощь в понимании принципа действия $G_и$. Холерный токсин обусловливает постоянную активацию А, препятствуя гидролизу ГТФ путем АДФ-рибозилирования $G_{c\alpha}$. Коклюшный токсин тоже приводит к АДФ-рибозилированию $G_{и\alpha} \cdot G_{и\beta}$, но в результате блокируется диссоциация комплекса на α- и β-субъединицы. Это предотвращает накопление нужного для ингибирования $G_{c\alpha}$ количества $G_{и\beta}$-субъединиц, и появляется достаточно свободных $G_{c\alpha}$-субъединиц, чтобы стимулировать А. Другими словами, коклюшный токсин, предотвращая действие $G_и$, создает условия для беспрепятственного действия G_c.

По всей вероятности, это не окончательная схема, но заинтересованный читатель должен согласиться с тем, что по сравнению с моделью 1 произошел значительный прогресс. Все изложенные факты и идеи неплохо характеризуют четвертьвековую работу.

История G-белка служит еще одним примером развития эндокринологических идей, которые находят широкое использование в биологии. Одновременно с описанными событиями исследователи, занимающиеся биохимией сетчатки глаза, обнаружили совершенно аналогичный G_c-белок в этой ткани. Он представляет собой тример и функционирует в качестве преобразующего элемента (он и назван «трансдуцином») в процессе активации фосфодиэстеразы ГМФ под воздействием света. В этой системе свет можно уподобить гормону, родопсин здесь играет роль гормонального рецептора, а фосфодиэстераза имитирует аденилатциклазу. Аналогичные G-белки (т. е. активируемые ГТФ и диссоциирующие при стимуляции) участвуют и в работе факторов инициации, элонгации и терминации при трансляции мРНК на рибосомах. Вероятно, подобный белок обеспечивает и биологический эффект инсулина.

Помимо чисто эстетической привлекательности схем с участием G-белков уже найдены пути практического использования этих новых знаний (Spiegel et al.). Симптомы холеры и коклюша относят на счет действия токсинов, продуцируемых соответствующими микроорганизмами. У некоторых больных псевдогипопаратиреозом (болезнь, при которой органы-мишени не способны реагировать на достаточное количество гормона) выявлен генети-

чески обусловленный дефицит и функциональная недостаточность G_c. Имеются данные о том, что недостаточность трансдуцина может вызывать у некоторых животных дегенерацию сетчатки глаза. Существуют даже структурные гомологии между G-белками и некоторыми продуктами онкогенов. В заключение следует подчеркнуть не только то, что G-белки играют важную роль в механизме активации аденилатциклазы, но и то, что близкие к ним регуляторные белки принимают участие во многих других биологических механизмах.

цАМФ-зависимые и другие протеинкиназы

Концепция регуляции метаболизма путем обратимого фосфорилирования ключевых ферментов уходит своими корнями в работы, посвященные гликогенолизу, выполненные в начале 1940-х гг. К. и Дж. Кори. Эти авторы показали, что фосфорилаза — фермент, лимитирующий скорость гликогенолиза, существует в двух формах: высокоактивной (a) и неактивной (b). В 1956 г. Сазерленд и др., а также Фишер (Fisher) и Кребс (Krebs) (все из лаборатории Кори) установили (соответственно на печеночной и мышечной ткани), что фосфорилаза *a* является фосфорилированным, а фосфорилаза *b* — дефосфорилированным белком. Вскоре после этого Фридман и Ларнер (Friedman, Larner) из группы Кори обнаружили, что активированная гликогенсинтетаза представляет собой *де*фосфорилированный белок, а неактивированная — фосфорилированный белок. Кребс, Уэлш и др., а также Грингард и др. установили, что фосфорилирование белка под влиянием цАМФ-зависимой протеинкиназы (цАМФ-ПК) является главным, если не единственным механизмом действия цАМФ в эукариотических клетках.

цАМФ-ПК в своей неактивной, или «закрытой», форме представляет собой тетрамерный белок, состоящий из двух регуляторных (R) и двух каталитических (C) субъединиц — R_2C_2. Каталитические субъединицы приобретают активность только при диссоциации комплекса, происходящей в результате связывания цАМФ регуляторными субъединицами. Таким образом:

$$R_2C_2 \text{ (неактивный фермент)} + 4\text{цАМФ} \rightleftharpoons (R\cdot\text{цАМФ}_2)_2 + $$
$$+ 2C \text{ (активные субъединицы)}.$$

При низких концентрациях цАМФ R и C реассоциируют в неактивный тетрамер. В табл. 3-2 перечислены некоторые виды белков — вероятных субстратов цАМФ-ПК.

На заре истории изучения цАМФ было показано, что цАМФ-ПК из одной ткани способна активировать субстраты в другой. Поэтому полагали, что не ПК определяет специфичность клеточных реакций на цАМФ. Однако в настоящее время есть основа-

Таблица 3-2. Белки, которые могут служить субстратами цАМФ-активируемой протеинкиназы

Белок	Эффект фосфорилирования
Компоненты мембраны	Изменение проницаемости
Ферменты, лимитирующие скорость метаболического процесса	Активация
Ферменты, лимитирующие скорость метаболического процесса	Ингибирование
Белки рибосом	Трансляция ↑ или ↓
Фактор инициации	Ингибирование
Ядерные белки	Транскрипция ↑ или ↓
Белки микротрубочек	Секреторный, двигательный эффект или изменение конфигурации клетки

Примечание. В любой клетке может присутствовать не один, а несколько субстратов цАМФ ПК

ния считать, что специфичность реакции в некоторой степени может определяться двумя типами цАМФ-ПК, присутствующими в неодинаковых соотношениях в разных клетках или даже в одной и той же клетке в разное время.

ПК I и II типов обладают одинаковыми С-субъединицами и поэтому действуют на субстраты сходным образом. Однако их R-субъединицы различаются по меньшей мере четырьмя признаками. 1) имеют разную молекулярную массу; 2) при частичном протеолизе дают разные пептидные карты, 3) R-субъединицы II типа подвергаются аутофосфорилированию своими собственными С-субъединицами, что в некоторой степени тормозит реассоциацию в неактивный тетрамер, и 4) участки связывания цАМФ на R_I и R_{II} различны.

Многие исследователи подчеркивали тот факт, что ПК I типа особенно характерна для тех клеток, которые при стимуляции подвергаются гипертрофии, или для тех (например, лимфоцитов, стимулированных митогеном), которые активно делятся. ПК I активируется при меньших концентрациях цАМФ, нежели ПК II. Поэтому возможно, что реакция клеток на цАМФ частично зависит от соотношения в них ПК I и II

Каким же образом это происходит? Согласно одной из предложенных гипотез, R-субъединицы не только освобождают С-субъединицы при аллостерическом связывании цАМФ, но и *определяют внутриклеточную локализацию комплекса* соединяясь с внутриклеточными органеллами. Это, возможно, способствует организации компартмента с высокой концентрацией С-субъединиц и тем самым увеличивает статистическую вероятность фосфорилирования определенных субстратов ПК. Можно себе пред-

Таблица 3-3. Краткий перечень серин-треониновых протеинкиназ[1]

Регуляторный агент	Регулируемая протеинкиназа
Циклический АМФ	цАМФ-зависимые ПК (типы I, II в сердце, тип II в мозге)
Циклический ГМФ	цГМФ-зависимая ПК
$(Ca^{2+})_n$-кальмодулин (см ниже)	Фосфорилазокиназа (киназа гликогенсинтетазы 2)
Ca^{2+}, диацилглицерол, фосфолипид (см ниже)	Протеинкиназа С

[1]) Krebs E G. (1983) *Philos. Trans R. Soc. Lond. (Biol)*, 302, 3

ставить, что в процессе дифференцировки отдельных клеток экспрессируются не только гены свойственных данной клетке субстратов ПК, но и гены, кодирующие белки с особым сродством к R_I и R_{II}. Вследствие этого возникает некоторая субстратная специфичность безразличных к субстратам С-субъединиц.

Другим интересным фактом, связанным с цАМФ-ПК, является то, что в ряде случаев микроинъекция высокоочищенных С субъединиц в цАМФ-чувствительные клетки воспроизводит ожидаемый биологический эффект, т. е. удается обойти повышение синтеза цАМФ и его взаимодействие с R-субъединицами.

Значение всех этих данных для биологии в целом трудно переоценить, поскольку оказалось, что они представляют собой лишь «верхушку айсберга». Проблема регуляции белков путем обратимого фосфорилирования играет в настоящее время центральную роль в регуляторной биохимии. Сейчас известно более 50 белков, обратимо фосфорилирующихся в тех или иных условиях. Вероятно, у половины фосфорилирование приводит к изменению функций; другие в ответ на него пока «молчат» (по-видимому, мы просто еще не понимаем, что они должны «говорить»)

Белковые субстраты цАМФ-ПК фосфорилируются по остаткам серина и треонина. Часто (как в случае гликогенсинтетазы) эти субстраты подвергаются множественному фосфорилированию. Известны случаи, когда гормоны-антагонисты (например адреналин через цАМФ-ПК и инсулин через цАМФ-независимую ПК) вызывают фосфорилирование одного и того же белка по различным сайтам, что по-разному меняет его активность

Вскоре после открытия цАМФ-ПК было обнаружено несколько других серин-треониновых протеинкиназ, регулируемых не цАМФ, а иными внутриклеточными вторыми посредниками (некоторые из них перечислены в табл. 3-3). В ряде случаев удалось выяснить их субстраты, которые могут быть и субстратами цАМФ-ПК, как, например, в случае протеинкиназ, зависимых от

Таблица 3-2. Белки, которые могут служить субстратами цАМФ-активируемой протеинкиназы

Белок	Эффект фосфорилирования
Компоненты мембраны	Изменение проницаемости
Ферменты, лимитирующие скорость метаболического процесса	Активация
Ферменты, лимитирующие скорость метаболического процесса	Ингибирование
Белки рибосом	Трансляция ↑ или ↓
Фактор инициации	Ингибирование
Ядерные белки	Транскрипция ↑ или ↓
Белки микротрубочек	Секреторный, двигательный эффект или изменение конфигурации клетки

Примечание. В любой клетке может присутствовать не один, а несколько субстратов цАМФ-ПК.

ния считать, что специфичность реакции в некоторой степени может определяться двумя типами цАМФ-ПК, присутствующими в неодинаковых соотношениях в разных клетках или даже в одной и той же клетке в разное время.

ПК I и II типов обладают одинаковыми С-субъединицами и поэтому действуют на субстраты сходным образом. Однако их R-субъединицы различаются по меньшей мере четырьмя признаками: 1) имеют разную молекулярную массу; 2) при частичном протеолизе дают разные пептидные карты; 3) R-субъединицы II типа подвергаются аутофосфорилированию своими собственными С-субъединицами, что в некоторой степени тормозит реассоциацию в неактивный тетрамер, и 4) участки связывания цАМФ на R_I и R_{II} различны.

Многие исследователи подчеркивали тот факт, что ПК I типа особенно характерна для тех клеток, которые при стимуляции подвергаются гипертрофии, или для тех (например, лимфоцитов, стимулированных митогеном), которые активно делятся. ПК I активируется при меньших концентрациях цАМФ, нежели ПК II. Поэтому возможно, что реакция клеток на цАМФ частично зависит от соотношения в них ПК I и II.

Каким же образом это происходит? Согласно одной из предложенных гипотез, R-субъединицы не только освобождают С-субъединицы при аллостерическом связывании цАМФ, но и *определяют внутриклеточную локализацию комплекса,* соединяясь с внутриклеточными органеллами. Это, возможно, способствует организации компартмента с высокой концентрацией С-субъединиц и тем самым увеличивает статистическую вероятность фосфорилирования определенных субстратов ПК. Можно себе пред-

Таблица 3-3. Краткий перечень серин-треониновых протеинкиназ[1)]

Регуляторный агент	Регулируемая протеинкиназа
Циклический АМФ	цАМФ-зависимые ПК (типы I, II в сердце, тип II в мозге)
Циклический ГМФ	цГМФ-зависимая ПК
$(Ca^{2+})_n$-кальмодулин (см. ниже)	Фосфорилазокиназа (киназа гликогенсинтетазы 2)
Ca^{2+}, диацилглицерол, фосфолипид (см. ниже)	Протеинкиназа С

[1)] Krebs E. G. (1983). *Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)*, 302, 3.

ставить, что в процессе дифференцировки отдельных клеток экспрессируются не только гены свойственных данной клетке субстратов ПК, но и гены, кодирующие белки с особым сродством к R_I и R_{II}. Вследствие этого возникает некоторая субстратная специфичность безразличных к субстратам С-субъединиц.

Другим интересным фактом, связанным с цАМФ-ПК, является то, что в ряде случаев микроинъекция высокоочищенных С субъединиц в цАМФ-чувствительные клетки воспроизводит ожидаемый биологический эффект, т. е. удается обойти повышение синтеза цАМФ и его взаимодействие с R-субъединицами.

Значение всех этих данных для биологии в целом трудно переоценить, поскольку оказалось, что они представляют собой лишь «верхушку айсберга». Проблема регуляции белков путем обратимого фосфорилирования играет в настоящее время центральную роль в регуляторной биохимии. Сейчас известно более 50 белков, обратимо фосфорилирующихся в тех или иных условиях. Вероятно, у половины фосфорилирование приводит к изменению функций; другие в ответ на него пока «молчат» (по-видимому, мы просто еще не понимаем, что́ они должны «говорить»).

Белковые субстраты цАМФ-ПК фосфорилируются по остаткам серина и треонина. Часто (как в случае гликогенсинтетазы) эти субстраты подвергаются множественному фосфорилированию. Известны случаи, когда гормоны-антагонисты (например адреналин через цАМФ-ПК и инсулин через цАМФ-независимую ПК) вызывают фосфорилирование одного и того же белка по различным сайтам, что по-разному меняет его активность.

Вскоре после открытия цАМФ-ПК было обнаружено несколько других серин-треониновых протеинкиназ, регулируемых не цАМФ, а иными внутриклеточными вторыми посредниками (некоторые из них перечислены в табл. 3-3). В ряде случаев удалось выяснить их субстраты, которые могут быть и субстратами цАМФ-ПК, как, например, в случае протеинкиназ, зависимых от

Таблица 3-4. Тирозиновые протеинкиназы[1)]

Регуляторный агент	Регулируемая протеинкиназа
Эпидермальный фактор роста (ЭФР)	Аутофосфорилирование рецепторов
Ростовой фактор из тромбоцитов (РФТ)	То же
Инсулин	—»—
Неизвестен	Различные продукты онкогенов и трансформирующие белки

[1)] По Krebs E. G. (1983). *Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)*, **302**, 3.

Ca^{2+}-кальмодулина [$(Ca^{2+})_n$·кальмодулин-ПК]. С другой стороны, в случае цГМФ-ПК пока не удалось идентифицировать ни одного белкового субстрата. Разнообразие потенциальных регуляторов свидетельствует о широком спектре возможностей тонкого контроля и модуляции биохимических реакций.

Однако на этом рассказ о фосфорилировании не кончается. Между 1979 и 1985 гг. было сделано и другое открытие, имеющее важнейшее значение для многих областей биологии, включая механизмы действия пептидных гормонов, стимуляцию роста и онкологию: были обнаружены тирозиновые протеинкиназы. В трех случаях оказалось, что взаимодействие пептидного агониста со своим рецептором вызывает аутофосфорилирование рецептора по остаткам тирозина (речь идет о таких пептидах, как эпидермальный фактор роста — ЭФР, ростовой фактор из тромбоцитов — РФТ и инсулин). Обнаружено фосфорилирование тирозина агонист-рецепторным комплексом и в других белках. Какую роль играет фосфорилирование рецептора в механизме биологического эффекта агониста, до сих пор неизвестно.

Насколько далеко мы ушли от открытых Кори в 1940 г. фосфорилаз *a* и *b*, свидетельствует следующее: во-первых, обнаружено, что различные продукты онкогенов обладают тирозинкиназной активностью, причем один из них генетически связан с РФТ, а другой — с рецептором ЭФР; во-вторых, через некоторое время следует ожидать расшифровки механизмов нормального и патологического роста клеток преимущественно с точки зрения роли тирозиновых протеинкиназ.

Тирозиновые протеинкиназы перечислены в табл. 3-4.

Внутриклеточная медиаторная функция кальция

Давний интерес биологов к ионам кальция был связан в основном с ролью этого элемента в построении скелета и с гомеостатической регуляцией его уровня в жидкостях организма. Кроме того, выяснилось, что кальций выполняет важную сопрягаю-

щую функцию между стимулом и сокращением мышц и между стимулом и секрецией гормонов в мозговом слое надпочечников и других клетках. В 1970 г. Расмуссен (Rasmussen) указал на значение кальция как внутриклеточного медиатора действия гормонов: он обнаружил, что паратгормон стимулирует глюконеогенез в почечных канальцах в присутствии Ca^{2+}, но не обладает подобным эффектом в его отсутствие, несмотря на сохраняющееся повышение уровня цАМФ. Позднее Борль (Borle) показал, что паратиреоидный гормон вызывает повышение цитозольной концентрации Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_ц$) в почке.

Чтобы понять, каким образом клеточные компоненты воспринимают небольшие изменения $[Ca^{2+}]_ц$ в качестве сигнала, нужно вспомнить, что $[Ca^{2+}]_ц$ в нестимулированной клетке составляет всего 1/10 000 концентрации Ca^{2+} во внеклеточной жидкости. В самом деле, клетка должна бдительно защищать себя от потенциально летальной концентрации Ca^{2+} в окружающей среде. При накоплении в клетке слишком большого количества Ca^{2+} образуется малорастворимая соль фосфата кальция, и прекращается любая продукция и утилизация АТФ. Поэтому клетки откачивают Ca^{2+} наружу с помощью Ca^{2+}-АТФазы, локализованной в плазматической мембране. В нестимулированной клетке $[Ca^{2+}]_ц$ составляет только 0,1 мкМ или менее; в стимулированной же — может возрастать до 0,6—2,0 мкМ. Внешний сигнал способен приводить к увеличению $[Ca^{2+}]_ц$ за счет: 1) облегчения притока Ca^{2+} из окружающей клетку среды, 2) торможения его оттока из клетки и 3) мобилизации внутренних запасов Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума и плазматической мембраны, а также (согласно некоторым авторам) митохондрий. В настоящее время удается регистрировать очень быстрые изменения $[Ca^{2+}]_ц$ с помощью флуоресцирующих соединений (квин-2 и экворин), которые вводят в цитозоль нестимулированной клетки. С ростом $[Ca^{2+}]_ц$ пропорционально усиливается флуоресценция, отражая степень и длительность изменений. С помощью этих методов удалось обнаружить повышение $[Ca^{2+}]_ц$ во многих типах стимулированных клеток.

Кальмодулин

Примерно в то же время, когда Расмуссен предположил, что ионы Ca^{2+} играют роль второго посредника, Ченг (Cheung) обнаружил в мозге термостабильный Ca^{2+}-зависимый активатор фосфодиэстеразы циклических нуклеотидов. За несколько лет удалось очистить и установить аминокислотную последовательность этого вещества. Им оказался одноцепочечный белок, состоящий из 148 аминокислот, с молекулярной массой 16 700. Треть его аминокислот приходится на долю глутамата или аспар-

тата, кислотные боковые цепи которых имеют COO^--группы, связывающие Ca^{2+}. Сейчас известно, что активатор образован четырьмя доменами, каждый из которых содержит участок, связывающий Ca^{2+}. При низкой $[Ca^{2+}]_ц$ белок в основном находится в цитозоле. При активации белка в результате связывания Ca^{2+} он вступает в контакт с плазматической и внутренними мембранами клетки, а также с другими органеллами. Начиная с 1978 г., когда Ченг назвал активатор фосфодиэстеразы *кальмодулином*, этот активируемый Ca^{2+} белок был найден во всех до сих пор изученных эукариотических клетках. Он, по-видимому, относится к числу высококонсервативных белков, поскольку, выделенный даже из простейших, способен активировать фосфодиэстеразу млекопитающих. Было установлено, что, подобно цАМФ, кальмодулин участвует в регуляции разнообразных биологических процессов, например секреции инсулина, тиреоидных гормонов, гормонов гипофиза и надпочечников, высвобождения нейромедиаторов, кишечной секреции, клеточной пролиферации, высвобождения лизосомных ферментов, синтеза простагландинов, распада микротрубочек, высвобождения гистамина, подвижности ресничек, лейкоцитарного фагоцитоза и т. д.

Во всех этих случаях для возникновения ответной реакции на стимул необходимы ионы Ca^{2+} и активация специфического набора клеточных белков, которые могут представлять собой ферменты, компоненты мембран или органелл. Как и в случае цАМФ, в тиреоидной клетке, например, по мере дифференцировки образуется набор Ca^{2+}-кальмодулин-чувствительных белков, необходимых именно для участия в координированной реакции на ТТГ. В клетке пучковой зоны коры надпочечника синтезируется иной, но тоже заранее запрограммированный набор Ca^{2+}-кальмодулин-чувствительных генных продуктов. (Читатель, несомненно, видит, что эти два типа клеток служили также примером клеток, у которых вторым посредником выступает цАМФ. Взаимоотношения посредников анализируются ниже.)

Каким образом комплекс Ca^{2+} с кальмодулином изменяет активность фермента? Хотя здесь не все еще ясно, но одна из привлекательных схем (Huang et al.) имеет следующий вид.

Если фермент в неактивном состоянии обозначить буквой E, а в высокоактивном — E*, то

$$(Ca^{2+})_2 + E = (Ca^{2+})_2 \cdot E.$$

Иными словами, связывание Ca^{2+} с двумя из четырех сайтов кальмодулина достаточно, чтобы присоединить последний к ферменту, не вызвав активации фермента. Но в этих условиях два оставшихся свободных участка кальмодулина приобретают гораздо большее сродство к Ca^{2+}. В результате

$$(Ca^{2+})_2 \cdot E + (Ca^{2+})_2 = (Ca^{2+})_4 \cdot E^*.$$

Предложены и другие модели; кроме того, последовательность реакций для разных кальмодулин-чувствительных молекул может быть неодинаковой. Факты и теории по данному вопросу изложены в обзоре Расмуссена и Баррета (Rasmussen, Barrett).

Комплекс Ca^{2+} с кальмодулином может изменять активность белков (увеличивая или уменьшая ее) одним из двух способов: 1) путем прямого взаимодействия с ферментом-мишенью или 2) через активируемую этим комплексом протеинкиназу. Действие последней полностью аналогично эффектам цАМФ-зависимой протеинкиназы, но белки-мишени могут различаться. Иногда (например, в случае фосфорилазокиназы) обе протеиназы фосфорилируют один и тот же фермент. Поэтому две киназы могут оказывать в гормон-чувствительной клетке более диффузный эффект, чем каждая в отдельности.

Мы рассмотрели *две* тонко организованные системы посредников, способных передавать сигнал о занятости рецептора любой «заинтересованной» молекуле в любой части клетки. Однако чувствительные клетки располагают еще большими ресурсами.

Фосфатидилинозитол, диацилглицерол, инозитолтрифосфат и протеинкиназа С

Молекулы, принимающие участие в регуляции обмена веществ, часто являются продуктами широко распространенных предшественников: цАМФ образуется из АТФ, почти неограниченные количества кальция легко получить из внеклеточной жидкости и внутриклеточных его запасов, стероидные гормоны синтезируются из холестерола, катехоламины и тиреоидные гормоны — из тирозина, предшественником серотонина является триптофан, а простагландины и другие аутокринные и паракринные регуляторы образуются из арахидоновой кислоты, которой богаты мембранные фосфолипиды. В результате исследований, начавшихся в 1953 г., но достигших расцвета лишь после 1975 г., удалось идентифицировать метаболит мембранных фосфолипидов — **фосфатидилинозитол** — в качестве предшественника двух вторых посредников некоторых гормонов, нейромедиаторов, активаторов тромбоцитов и других агонистов, включая фотоны, действующие на фоторецепторы, и сперматозоиды морского ежа, оплодотворяющие яйцеклетки!

В основе этого впечатляющего открытия лежат данные о том, что ацетилхолин стимулирует включение ^{32}P в фосфолипиды (Hokin, Hokin, 1953). В 1969 г. Дьюрелл и др. (Durell et al.) предположили, что этот процесс может иметь отношение к функции рецептора. Мичел (Michell) в подробном обзоре, опубликованном в 1975 г., высказал мысль, что те агонисты, которые повышают $[Ca^{2+}]_ц$, могут стимулировать и кругооборот фосфоинозитола.

В 1977 г. Нисидзука и др. (Nishizuka et al.) обнаружили новую протеинкиназу, названную ими протеинкиназой С, поскольку она активировалась Ca^{2+} в присутствии фосфолипидов. Позднее эти же авторы установили, что диацилглицерол (ДГ) — первичный продукт гидролиза фосфатидилинозитолполифосфата (мембранного фосфолипида) — резко повышает сродство фермента к Ca^{2+}. (Это прямое действие ионов Ca^{2+}, без участия кальмодулина.) Кроме того, ученые показали, что и некоторые канцерогенные форболовые эфиры (по структуре напоминающие ДГ) имитируют эффект ДГ. Протеинкиназа С фосфорилирует многие белки по сериновым и треониновым остаткам и имеет некоторые (но не все) общие субстраты с цАМФ-зависимой протеинкиназой.

Биологические эффекты протеинкиназы С были продемонстрированы на изолированных тромбоцитах, которые реагируют на действие ряда агонистов высвобождением серотонина и лизосомных ферментов, что легко поддается определению. При стимуляции тромбоцитов тромбином наблюдается избирательное фосфорилирование двух белков — одного с мол. массой 40 000 (40 К) и другого — 20 000 (20 К). Если повысить $[Ca^{2+}]_ц$ не тромбином, а с помощью кальциевого ионофора А23187 (широко применяемый способ повышения концентрации Ca^{2+} в цитозоле), то фосфорилируется только белок 20 К, и биологическая реакция сильно тормозится. Подобно этому, при активации протеинкиназы С аналогом ДГ (форболовым эфиром) фосфорилируется только белок 40 К, а биологическая реакция проявляется лишь в минимальной степени. Однако, если подействовать на тромбоциты обоими факторами (А23187 и форболовым эфиром), фосфорилируются оба белка, а биологическая реакция становится такой же, как при действии тромбина. Подобные синергичные эффекты Ca^{2+} и аналогов ДГ зарегистрированы по меньшей мере на клетках семи различных типов.

Одновременные исследования инозитолтрифосфата ($ИФ_3$) показали, что это соединение, представляющее собой другой первичный продукт гидролиза инозитолполифосфата, повышает $[Ca^{2+}]_ц$, высвобождая Ca^{2+} из внутриклеточных запасов, в основном из эндоплазматического ретикулума (см. Berridge). Сложность проблемы усугубляется тем, что 2-й углеродный атом в ДГ обычно соединен с арахидоновой кислотой, которая служит предшественником простагландинов и многих других близких по структуре биологически активных веществ (см. гл. 4).

На рис. 3-3 графически суммированы реакции, посредством которых гидролиз фосфатидилинозитола-4,5-бисфосфата может участвовать в регуляторных механизмах клеток, стимулированных гормонами или другими агонистами. В пределах этой большой схемы клетки каждого отдельного типа содержат свой собственный специфический набор регулируемых компонентов; по-

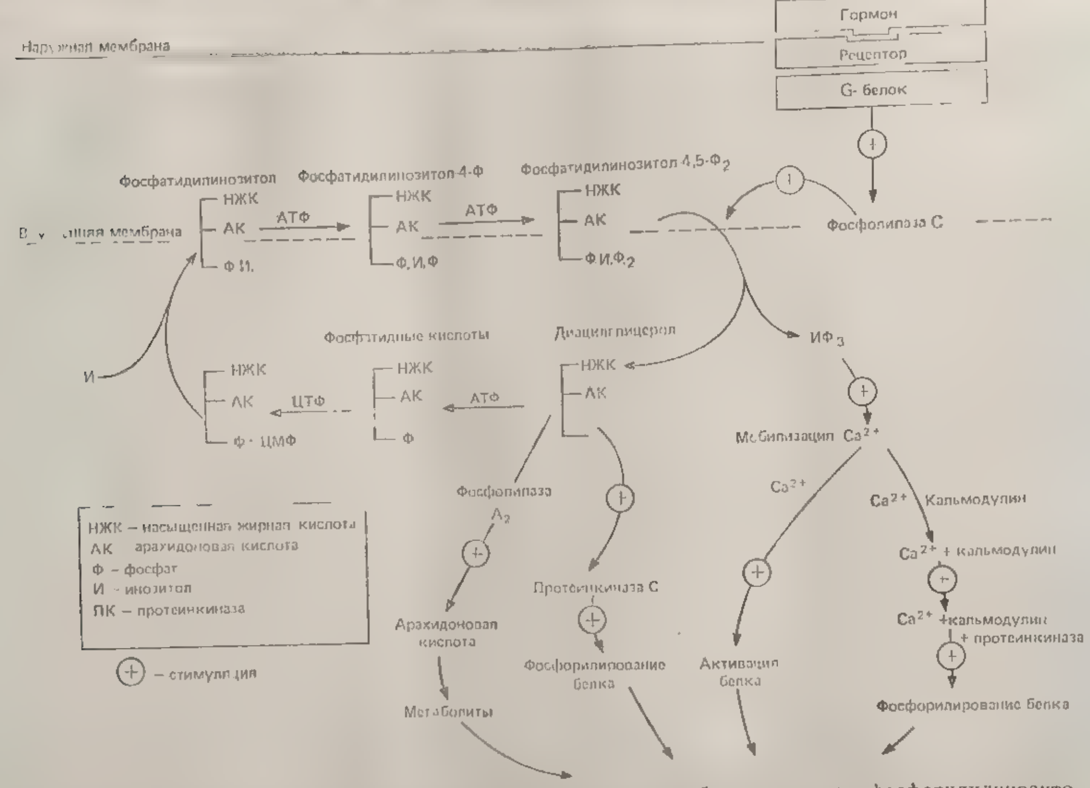


Рис. 3-3. Общая схема образования и функционирования метаболитов полифосфатидилинозитола — диацилглицерола и инозитолтрифосфата (ИФ$_3$). Все процессы в конечном итоге приводят к биологическому эффекту. [По Nishizuka, 1984, Science; Berridge, 1984, Biochem. J. и Rasmussen, 1984, Physiol. Rev. Полностью ссылки приведены в списке литературы.]

этому-то и различается характер клеточных реакций. Предшественник двух новых вторых посредников — ДГ и $ИФ_3$ — в больших количествах находится с внутренней стороны плазматической мембраны и подвергается гидролизу в ответ на сигнал, идущий от рецептора после его взаимодействия с гормоном. Этот сигнал передается на фосфолипазу С с помощью G-белка.

Взаимодействие вторых посредников

Теперь мы располагаем внушительным набором вторых посредников: цАМФ, Ca^{2+}, комплекс Ca^{2+}-кальмодулин, ДГ и $ИФ_3$ — смущающее богатство! Мы рассмотрели кооперативные механизмы действия ДГ и $ИФ_3$ в опосредовании биологического эффекта; перейдем к проблеме взаимосвязи Ca^{2+} с цАМФ.

Прежде всего, как упоминалось при рассмотрении кальмодулина, Ca^{2+} обладает *стимулирующим* действием на фосфодиэстеразу цАМФ, поэтому он мог бы выполнять функцию регулятора цАМФ-опосредованных реакций, уменьшая накопление цАМФ. В некоторых клетках (например, мозга) комплекс Ca^{2+}-кальмодулин *стимулирует* аденилатциклазу, что должно потенцировать цАМФ-опосредованные реакции. В других клетках этот комплекс *ингибирует* аденилатциклазу, что должно приводить к противоположному результату. По-видимому, трудно изложить проблему взаимодействия цАМФ и Ca^{2+} иначе, чем словами о том, что каждый из них влияет на систему другого.

Подходы Расмуссена к решению этой проблемы весьма полезны. Можно предположить пять различных ситуаций, в которых конечная интегральная биологическая реакция зависит от одновременного присутствия цАМФ и Ca^{2+}, действующих вместе или последовательно: 1) равноправное *партнерство*, когда оба посредника необходимы для полного проявления биологического эффекта; 2) тот или другой посредник играет главную роль, а второй лишь *способствует* реакции или *облегчает* ее; 3) посредники действуют *последовательно*, т. е. высвобождение Ca^{2+} повышает продукцию цАМФ, а затем они работают вместе, и наоборот; 4) двойной контроль может быть избыточным, дублирующим, «страховочным» и 5) посредники являются *антагонистами*, т. е. выступают в роли «тормоза» или «сигнала выключения» друг друга. Интересующийся читатель может найти экспериментальные подтверждения этих положений в книге Расмуссена.

Наконец, разные посредники могут действовать в разных временных интервалах, как это имеет место при стимуляции секреции инсулина глюкозой или секреции альдостерона ангиотензином II. В этих случаях $[Ca^{2+}]_ц$ возрастает сразу же после стимулирующего сигнала, но уже через несколько минут возвращается к исходной, несмотря на продолжающееся действие аго-

ниста. Реакция, однако, сохраняется в течение часа и более. Ca^{2+} действует как на ранних, так и на поздних этапах реакции: в первые минуты реакция опосредуется кальмодулином, а поддержание ее связано главным образом с активацией протеинкиназы С. Реакция в целом обусловлена действием обоих посредников.

Ca^{2+} играет важную роль и в качестве сигнала для высвобождения арахидоновй кислоты из мембранных фосфолипидов, причем не только из ДГ, образующегося из фосфатидилинозитола (см. рис. 3-3) и являющегося с количественной точки зрения лишь минорным фосфолипидным компонентом мембран, но и из фосфатидилхолина и других фосфолипидов, присутствующих в мембранах в бо́льших количествах. Значение этого факта станет более ясным при рассмотрении метаболитов арахидоновой кислоты в следующей главе.

Координация реакций, опосредуемых циклическим АМФ

Реакции клеток на гормоны в высшей степени координированы. Одни внутриклеточные процессы при этом активируются, другие — тормозятся. Характер реакции зависит в конечном счете от конкретного набора субстратов ПК, присутствующих в реагирующей клетке. Например, в клетке печени субстратом цАМФ-активируемой ПК является киназа фосфорилазы *b*. Поэтому при увеличении содержания цАМФ стимулируется (у некоторых видов) расшифрованный Кребсом каскад реакций гликогенолиза. Если в таких условиях сохранялась бы высокая скорость синтеза гликогена, то активация фосфорилазы явилась бы просто частью «бесполезного цикла». Однако фермент гликогенсинтетаза в свою очередь служит субстратом цАМФ-зависимой протеинкиназы, и в этом случае фосфорилированный фермент неактивен. Таким образом, фосфорилирование двух ферментов, катализирующих противоположные в физиологическом смысле реакции, приводит к стимуляции гликогенолиза и торможению синтеза гликогена. При этом гепатоцит секретирует глюкозу в печеночную вену.

Другой пример синхронного фосфорилирования можно видеть в клетках коры надпочечника, стимулированных АКТГ. В этом случае цАМФ-ПК фосфорилирует не менее *трех* белков: 1) гидролазу эфиров холестерола (поставляющую холестерол для биосинтеза стероидных гормонов); 2) рибосомный белок, участвующий в трансляции специфического белка, необходимого для синтеза гормонов, и 3) фосфорилазу, обеспечивающую гликогенолиз.

Даже если не удается с определенностью идентифицировать субстраты ПК или они известны, но неизвестна их биологическая роль, изложенные представления важны с теоретической точки зрения; можно считать, что каждая чувствительная к гормону клетка содержит свой собственный особый набор субстратов ПК,

играющих существенную регуляторную роль в ее жизнедеятельности. Примеры некоторых субстратов ПК приведены в табл. 3-2. Таким образом, клетка формирует специфический ответ, несмотря на то, что многие молекулярные компоненты реагирующей системы у данной клетки такие же, как у других, запрограммированных на *иные* реакции природой и распределением субстратов ПК.

Циклический ГМФ

Циклический ГМФ был впервые обнаружен в 1963 году в моче крыс. С тех пор он интенсивно изучается, но пока известна лишь одна физиологическая функция — зрение,— в осуществлении которой он участвует (см. ниже). Если многие гормоны активируют аденилатциклазу в бесклеточных системах и даже в препаратах очищенных плазматических мембран, то попытки активировать гуанилатциклазу в аналогичных условиях были не столь успешными.

Наиболее подробно изученная реакция, связанная с цГМФ — это повышение его концентрации в миокарде и других тканях в ответ на действие ацетилхолина и близких соединений. Эта реакция зависит от времени и дозы агониста, блокируется атропином, усиливается ингибиторами фосфодиэстеразы и требует присутствия Ca^{2+}. При анализе реакций цГМФ не всегда можно приписать роль второго посредника, поскольку в одних случаях (например, при сокращении гладкой мускулатуры, секреции амилазы слюнными железами) увеличение концентрации цГМФ происходит *после* возникновения биологического ответа, а в других (отрицательное инотропное действие на сердечную мышцу) — регистрируется одновременно с биологическим эффектом.

Поскольку для повышения тканевой концентрации цГМФ необходим Ca^{2+} и поскольку Ca^{2+} способен стимулировать растворимую гуанилатциклазу, некоторые авторы считают, что изменение уровня цГМФ может отражать прирост концентрации ионов кальция в цитозоле.

Одним из наиболее интересных объектов для изучения роли цГМФ служит сетчатка глаза, где, как полагают, фосфодиэстераза цГМФ участвует в происходящей под действием света гиперполяризации мембран палочек (см. Clark et al.).

В настоящее время показана гормональная активация гуанилатциклазы в бесклеточной системе. Вальдман и др. (Waldmann et al.) нашли, что предсердный натриуретический фактор (ПНФ) активирует гуанилатциклазу во фракции частиц, содержащей неочищенные мембраны из гомогената почки крысы. Эти опыты, несомненно, возрождают интерес к цГМФ (см. также Atlas S. A. (1985). Recent Prog. Hormone Res., 42,207).

Литература[1]

Atlas S. A. (1985). Recent. Prog. Hormone Res., 42, 207.

Berridge M. J. (1984). Cellular control through interactions between cyclic nucleotides and calcium. In: Greengard P. (ed.), Advances in Cyclic Nucleotide and Protein Phosphorylation Research, vol. 17, New York, Raven Press, 329.

Berridge M. J. (1984). Inositol triphosphate and diacylglycerol as second messengers, Biochem. J., **220**, 345.

Birnbaumer L., Codina J., Mattera R. et al. (1985). Regulation of hormone receptors and adenyl cyclases by guanine nucleotide binding N proteins, Recent. Prog. Horm. Res., **41**, 41.

Cheung W. Y. (1980). Calmodulin plays a pivotal role in cellular regulation, Science, 207, 19.

Clack J. W., Oakley B., Stein P. J. (1983). Injection of GTP-binding protein or cyclic GMP phosphodiesterase hyperpolarizes retinal rods, Nature, **305**, 50.

Cohen P. (1982). The role of protein phosphorylation in neural and hormonal control of cellular activity, Nature, 296, 613.

Fain J. N. (1979). Hormones, membranes, and cyclic nucleotides. In: Cuatrecases P., Greaves M. (eds.). Receptors and Recognition, vol 6, London, Chapman and Hall, Chapter 1.

Friedman D. L., Johnson R. A., Zeilig C. E. (1976). The role of cyclic nucleotides in the cell cycle, Adv. Cyclic Nucleotide Protein Phosphorylation Res., 7, 69

Gill D. M. (1982). Cholera toxin catalyzed ADP-ribosylation of membrane proteins. In: Hayaishi O., Ueda K. (eds). ADP-Ribosylation Reactions in Biology and Medicine, New York, Academic Press, 593—621.

Gilman A. G. (1984). Guanite nucleotide-binding regulatory proteins and dual control of adenylate cyclase, J. Clin. Invest., **73**, 1.

Hildebrandt J. D., Codina J., Risinger R. et al. (1984). Identification of a gamma subunit assiciated with the adenylyl cyclase regulatory proteins N_s and N_i. J. Biol Chem., **259**, 2039.

Hughes S. M. (1983). Are guanite nucleotide binding proteins a distinct class of regulatory proteins? FEBS Lett, 164, 1.

Insel P. A. (1978). Membrane-active hormones: Receptors and receptor regulation In: Rickenberg H. V. (ed.). Biochemistry and Mode of Action of Hormones, II, vol. 20, Baltimore, University Park Press, 1—43.

Krebs E. G. (1983). Historical perspectives on protein phosphorylation and a classification system for protein kinases, Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol), **302**, 3.

Lohmann S. M., Walter U. (1984). Regulation of the cellular and subcellular concentrations and distribution of cyclic nucleotide-dependent protein kinases. In: Greengerd P., Robison G. A. (eds) Advances in Cyclic Nucleotide Research. vol. 18, New York, Raven Press, 63—117.

Michell R. H. (1975). Inositol phospholipids and cell surface receptor function, Biochem. Biophys. Acta., **415**, 81.

Miller W. H. (1982). Physiological evidence that light-mediated decrease in cyclic GMP is an intermediary process in retinal rod transduction, J. Gen. Physiol., **80**, 103.

Nishizuka Y. (1984). The role of protein kinase C in cell surface signal transduction and tumour promotion, Nature, **308**, 693.

Nishizuka Y. (1984). Turnover of inositol phospholipids and signal transduction, Science, **225**, 1365.

Pfeuffer T. (1977). GTP-binding proteins in membranes and the control of adenylate cyclase activity, J. Biol. Chem., **252**, 7224.

Rasmussen H. (1970). Cell communication, calcium ion and cyclic adenosine monophosphate, Science, **170**, 404.

[1] См. примечание на с. 40.

Rasmussen H. (1981). Calcium and cAMP as Synarchic Messengers, New York, John Wiley a. Sons.
Rasmussen H., Barrett P. Q. (1984). Calcium messenger system. An integrated overview, Physiol. Rev., **64**, 938.
Rodbell M., Brinbaumer L., Pohl S. L. et al. (1971). The glucagonsensitive adenylcyclase system in plasma membranes of rat liver. V. An obligatory role of guanyl nucleotides in glucagon action, J. Biol. Chem., **246**, 1877.
Ross E. M., Gilman A. G. (1980). Biochemical properties of hormone-sensitive adenylate cyclase, Ann. Rev. Biochem., **49**, 533.
Schulman H., Greengard P. (1978). Ca^{2+}-dependent protein phosphorylation system in membranes from vyrious tissues and its activation by «calcium-dependent regulator», Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **75**, 5432.
Spiegel A. M., Gierschik P., Levine M. A. et al. (1985). Clinical implications of guanine nucleotide binding proteins as receptor-effector couplers, N. Engl. J. Med., **312**, 26.
Sutherland E. W. (1972). Studies on the mechanism of hormone action (Nobel lecture), Science, **177**, 401.
Tomchik K. I., Devreotes P. N. (1984). Adenisine 3′5′ monophosphate waves in *Dyctyostelium discoideum*: A demonstration by istope dilution-fluorography, Science, **212**, 443.
Tomlinson S., Macneil S., Walker S. W. et al. (1984). Calmodulin and cell function, Clin. Sci., **66**, 497.
Ui M. (1985). Islet activating protein, pertussis toxin: A probe for functions of the inhibitory guanite nucleotide regulatory component of adenylate cyclase, Trends. Pharmacol. Sci., **5**, 277.
Waldman S. A., Rapoport R. M., Murad F. (1984). Atrial natriuretic factor selectively activates particulate guanylate cyclase and elevates cyclic GMP in rat tissues, J. Biol. Chem., **259**, 14332.
Walsh D. A., Cooper R. H. (1979). The physiological regulation and function of cAMP-dependent protein kinases. In: Litwack G. (ed.). Biochemical Actions of Hormones, vol. 6, New York, Academic Press.

Глава 4

Простагландины, тромбоксан и лейкотриены

В начале 30-х гг. были сделаны два на первый взгляд несвязанных между собой наблюдения: 1) свежая семенная жидкость человека вызывала либо сокращение, либо расслабление гладкой мускулатуры матки in vitro (Kurzrok, Lieb); 2) недостаток полиненасыщенных жирных кислот в диете вызывал у экспериментальных животных различные патологические изменения (Burr, Evans). Сейчас, окинув взглядом более 50 прошедших лет, можно увидеть слияние двух направлений исследований, развившихся из этих старых наблюдений.

Данные Курцрока и Либа быстро подтвердились в работах других авторов — Гольдблатта (Goldblatt) в Англии и фон Эйлера (von Euler) в Швеции, которые обнаружили, что жирорастворимые экстракты семенной жидкости стимулируют различные

типы гладкой мускулатуры и, кроме того, снижают артериальное давление у интактных животных. Однако химические подходы к решению этой проблемы появились только после 1947 г., когда Бергстрём (Bergström) попытался очистить и идентифицировать то, что уже фон Эйлер назвал «простагландином»[1], поскольку наиболее активные экстракты были получены именно из предстательной железы барана.

С помощью новых для того времени хроматографических методов и подбора растворителей для экстракции Бергстрёму удалось выделить в чистом кристаллическом виде и спустя 15 лет (в 1963 г.) определить структуру двух простагландинов — $ПГЕ_1$ и $ПГЕ_2$. Впоследствии было найдено много аналогичных соединений. Некоторые из них принадлежат к числу наиболее активных из известных биологических веществ. Например, снижают артериальное давление у больных гипертонией уже в дозе 1—2 мкг/кг.

Позднее Хамберг, Самюэльсон (Hamberg, Samuelson) и др. обнаружили короткоживущие соединения, названные ими $ПГG_2$ и $ПГН_2$. Эти соединения, оказавшиеся эндоперекисями (их период полураспада в водной среде составляет 5 мин), помогли выяснить пути биосинтеза всех известных простагландинов из их общего предшественника — арахидоновой кислоты (скелет из 20 атомов углерода; 4 двойные связи). Далее было показано, что эндоперекиси служат предшественниками не только известных простагландинов, но и двух новых соединений, получивших название *простациклина* ($ПГI_2$) и *тромбоксана* (TxA_2). Подобно эндоперекисям, эти весьма активные вещества тоже имеют очень короткий период полураспада в водной среде, но, к счастью, их можно обнаружить по стабильным продуктам метаболической трансформации (TxB_2 для TxA_2 и 6-кето-$ПГF_1$ для $ПГI_2$). Таким образом, активность систем, образующих простациклин и тромбоксан, можно оценить, определяя накопление стабильных продуктов после добавления к тканям или клеткам арахидоновой кислоты (рис. 4-1). Химия и номенклатура простагландинов отражена на рис. 4-2.

Все описанные пока метаболиты арахидоновой кислоты образуются при участии ферментного комплекса циклооксигеназы, катализирующего синтез эндоперекисей из арахидоновой кислоты (рис. 4-3). Простагландины, тромбоксан и простациклин — все образуются из эндоперекисей.

Начальный этап синтеза метаболитов арахидоновой кислоты другого семейства, а именно *лейкотриенов*, катализируется *липоксигеназными* ферментами. С тех пор как в 1979 г. было показано, что один или несколько подобных метаболитов представляют

[1] От англ. prostate gland — предстательная железа. — *Прим. ред.*

собой тот самый трудноуловимый фактор, который был известен как медленно реагирующее вещество при анафилаксии (МРВ-А, см. ниже), о них накопилась большая литература. *Все* метаболиты арахидоновой кислоты, будь то продукты циклооксигеназного или липоксигеназного пути, имеют общее название — *эйкозаноиды*.

Они принадлежат к классу *аутокринных* или *паракринных* факторов, т. е. могут действовать либо на те самые клетки, которые синтезируют их под влиянием соответствующих стимулов, либо на соседние. Эйкозаноиды усиливают или ослабляют действие гормонов и других агонистов, вызывающих их синтез и секрецию. Таким образом, ко вторым посредникам, описанным в гл. 3, следует теперь добавить еще один обширный класс переносящих информацию молекул, которые являются производными арахидоновой кислоты и могут действовать с помощью многочисленных, уже известных нам посредников.

Продукты циклооксигеназы: простагландины, простациклин, тромбоксан

Номенклатура, химия и биосинтез

Химическая структура простагландинов и некоторые общепринятые названия представлены на рис. 4-2. Как видно из рисунка, конфигурация арахидоновой кислоты имеет вид «шпильки», и замыкание 8 и 12 углеродных атомов приведет к образованию простаноевой кислоты. Буквенные обозначения, стоящие после аббревиатуры ПГ, указывают на конфигурацию пятичленного кольца. Цифры отражают число двойных связей в молекуле. Греческие буквы α или β обозначают стереоизомерную форму соединения.

Биосинтез простагландинов изображен на рис. 4-3. Непосредственным предшественником эндоперекисных интермедиатов служит арахидоновая кислота, которая высвобождается из мембранных фосфолипидов многих клеток при стимуляции их гормонами, нейромедиаторами, иммунологическими факторами, а также физическими или химическими повреждениями. Поступление арахидоновой кислоты является этапом, лимитирующим скорость всего процесса синтеза ПГ. Недавно было показано, что антивоспалительный эффект глюкокортикоидов надпочечников отчасти обусловлен ингибирующим действием фармакологических доз этих стероидов на фосфолипазу A_2 — фермент, мобилизующий арахидоновую кислоту. Это открытие можно считать одним из основных достижений в изучении простагландинов, поскольку оно продемонстрировало, что ПГ — необходимый компонент развития воспалительного процесса.

А

Тромбоксан $A_2(T_XA_2)$

Тромбоксан B_2
(ПГD)
(стабильный метаболит)

Б

Простациклин ($ПГI_2$)

Неферментативный путь

6-кето-$F_{1\alpha}$
(стабильный метаболит)

Рис. 4-1. Тромбоксан (*А*), простациклин (*Б*) и их стабильные метаболиты. (6-кето-$F_{1\alpha}$ — 6-кето-$ПГF_{1\alpha}$).

Вторая стадия биосинтеза простагландинов катализируется циклооксигеназой, или синтетазой эндоперекисей. Вейн (Vane) и др. установили, что ингибиторами этого фермента являются нестероидные антивоспалительные средства (НАС), такие, как аспирин и индометацин. Хотя ацетилсалициловую кислоту в огромных количествах давно принимает множество людей, но открытие Вейна послужило первым убедительным объяснением механизма ее действия. Первый и второй этапы биосинтеза (через эндоперекиси) протекают одинаково во всех тканях, способных синтезировать простагландины.

Дальнейшая судьба $ПГН_2$ зависит от ткани, в которой он образовался. ПГ-синтезирующий комплекс полезно сравнить с биохимическим процессом синтеза стероидных гормонов (см. гл. 11). Основной набор ферментов в разных стероид-продуцирующих клетках практически одинаков, но именно *преобладание тех или иных* определяет различия между клетками, в которых синтезируются определенные стероиды. Подобно этому, клетка А в процессе дифференцировки могла бы приобрести способность продуцировать тромбоксан, а клетка В — специализироваться на продукции простациклина. Ниже мы рассмотрим примеры такой специализации.

ПГ — простагландин

Арахидоновая кислота

Простаноевая кислота

ПГA ПГD

ПГE ПГF

Буквы структура кольца

ПГG_2

ПГH_2

Короткоживущие интермедиаты

ПГE_1

ПГE_2

Цифры число двойных связей

Рис. 4-2. Химическое строение и номенклатура простагландинов.

Вступление ПГН$_2$ на один из четырех путей метаболизма (см. рис. 4-3) определяется не только преобладанием того или иного фермента в ткани (например, ТхА$_2$-синтетазы или ПГ-оксоциклазы). Так, если в клетке образуются большие количества глютатиона, будет синтезироваться преимущественно ПГЕ$_2$ в ущерб продукции других соединений.

Биологическое действие простагландинов

Эффекты простагландинов суммированы в табл. 4-1. Поскольку фосфолипиды всех клеточных мембран содержат арахидоновую кислоту, то и все клетки организма потенциально могут являться источником простагландинов. Большинство литературных данных, накопленных к 1975—1976 гг., касалось эффектов ста-

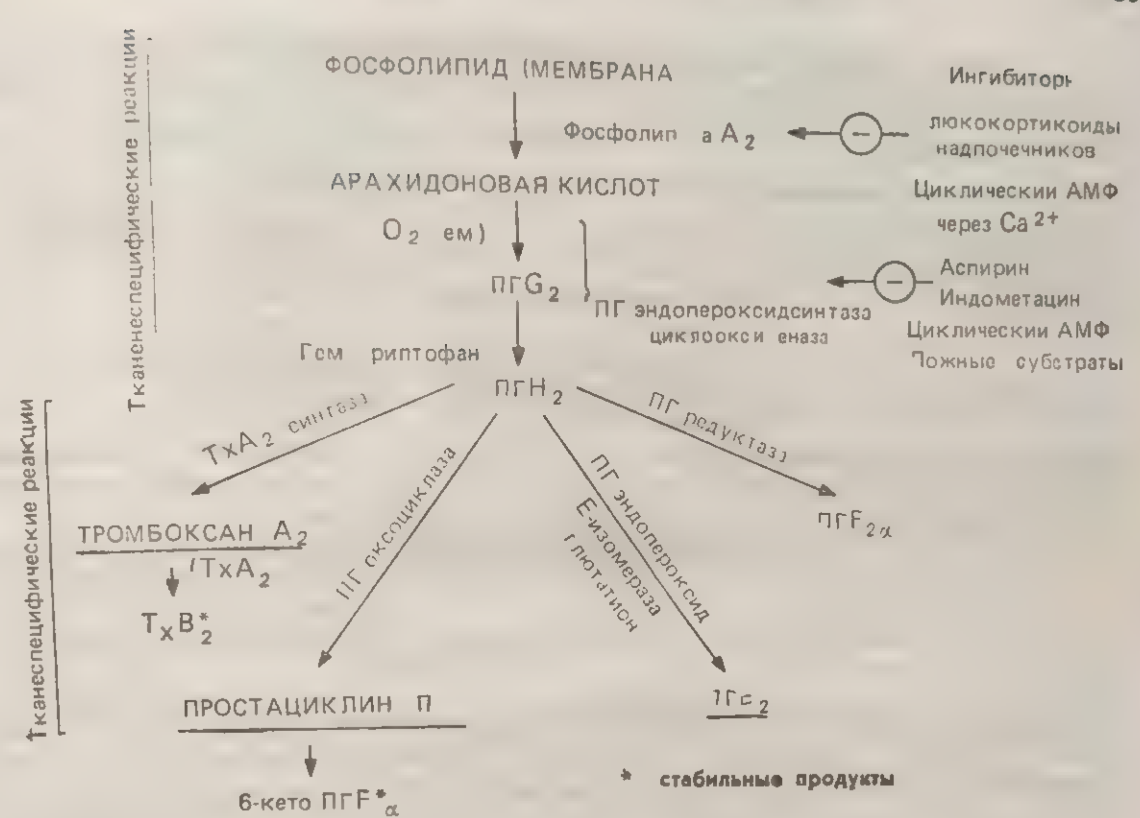


Рис. 4-3. Биосинтез простагландинов.

бильных ПГ, особенно простагландинов групп Е, F и, в меньшей степени, А. Эти соединения проявляют активность почти во всех системах, и причем в большинстве из них простагландины групп Е и F оказывают противоположное действие. Позднее, после открытия простациклина и тромбоксана выяснилось, что эти вещества по отношению друг к другу ведут себя подобно ПГЕ и ПГF.

Эффекты простагландинов можно тестировать на клетках и тканях, но при регистрации эффекта нет полной уверенности в том, что эти вещества регулируют активность клеток в физиологических условиях. Даже если удается обнаружить продукцию ПГ, оценить их физиологическую роль тоже довольно трудно. Поэтому о значении ПГ в том или ином биологическом процессе судят косвенно, главным образом по данным опытов с ингибиторами: биологическую реакцию (например, секрецию, сокращение, ответ на гормон) регистрируют до и после введения животному или добавления к ткани ингибиторов синтеза ПГ, таких, как ацетилсалициловая кислота или индометацин. Если ингибитор изменяет течение реакции, это считают косвенным доказательством участия ПГ в механизмах ее возникновения.

Действие простагландинов часто наблюдается в тех гормончувствительных клетках, где вторым посредником служит цАМФ. Простагландины группы Е и простациклин, как правило, влияют на уровень цАМФ путем изменения активности аденилатциклазы.

Таблица 4-1. Основные эффекты простагландинов

Процесс	Ткань	Эффект
Сокращение или расслабление гладкой мускулатуры	Легкие	Расширение бронхов
	Матка	Сокращение
	Желудочно-кишечный тракт	—»—
	Кровеносные сосуды	Вазодилатация
Стероидогенез	Кора надпочечников	Стимуляция
	Желтое тело	—»—
Транспорт солей и воды	Почка	Натриурез: повышение клиренса свободной воды
	Мочевой пузырь жабы	Транспорт Na; модуляция эффекта АДГ на транспорт воды
Секреция и биосинтез тиреоидных гормонов	Щитовидная железа	Имитация эффекта ТТГ
Липолиз	Адипоциты	Торможение липолиза
Свертывание крови	Тромбоциты (см. текст)	Торможение или усиление агрегации
Секреция кислоты	Слизистая оболочка желудка	Торможение

Действие на сердечно-сосудистую систему и почки

Множество исследований посвящено роли ПГ в физиологии и патофизиологии сердечно-сосудистой системы и почек. Например, Н. Терраньо и А. Терраньо (N. Terragno, A. Terragno) обнаружили, что как у матери, так и у плода наиболее важным в количественном отношении производным ПГ в сосудистой стенке является простациклин. У плода концентрация последнего особенно высока в аорте и легочной артерии. В этой связи следует упомянуть данные о возможной роли ПГ в развитии сосудистой системы плода и новорожденного. Хейман (Heyman) и др. продемонстрировали заращение артериального протока у недоношенного ребенка при введении ингибитора ПГ-синтетазы, т. е. с помощью лекарственного средства удалось получить результат, который ранее достигался только хирургическим путем. Это наблюдение показало, что одной из функций простациклина у плода может быть сохранение сосудистой системы в ее пренатальном виде.

Установлено, что ПГ групп А и Е снижают артериальное давление у нормотензивных животных, а также у больных гипертонией. Механизмы этих эффектов не полностью ясны, но указанные две группы ПГ действуют, очевидно, различным образом. Кроме того, ПГА оказывают выраженное диуретическое и нат-

риуретическое (стимулирующее экскрецию натрия) действие у больных гипертонией, что особенно ценно для клиники. Одна из распространенных гипотез (см. Lee) связывает продукцию ПГ почками с гомеостатической регуляцией артериального давления: предполагается, что ПГ и являются давно разыскиваемым «антигипертензивным эндокринным фактором» почек. Оценить многие эксперименты, выясняющие связь ПГ с деятельностью сердечно-сосудистой системы и почек, довольно трудно, поскольку исследователи только приступили к изучению роли короткоживущих ПГ — простациклина и тромбоксана в функционировании системы кровообращения. Простациклин, по-видимому, является основным метаболитом ПГ в сосудах (см. Moncada, Vane; Sivakoff et al.). Интересно, что эти же вещества, очевидно, служат мощными стимуляторами секреции ренина (см. Oates et al.).

Репродуктивная система

Химически стабильные ПГ оказывают выраженное влияние на репродуктивную систему у особей обоего пола. Первоначально высокая активность ПГ была обнаружена именно в семенной жидкости. Однако до сих пор функция ПГ в сперме остается неизвестной, хотя и предполагается, что они стимулируют гладкую мускулатуру женских половых путей и могут поэтому способствовать перемещению сперматозоидов в фаллопиевы трубы, где происходит оплодотворение.

Среди эффектов ПГ у особей женского пола наиболее изучена *стимуляция гладких мышц матки*. Это обусловило использование ПГF_2 в качестве средства для прерывания беременности или индукции родовой деятельности (см. Karim, Filshei). На значение ПГ в родовой деятельности указывают данные о значительной задержке ее как у экспериментальных животных, так и у женщин, получающих вещества, ингибирующие синтез ПГ.

У некоторых видов (например, овец) вырабатываемые маткой ПГ обусловливают *инволюцию желтого тела*. У женщин ПГ матки, по-видимому, не участвуют в инволюции желтого тела, поскольку этот процесс сохраняется и после удаления матки. Однако в этом могут участвовать ПГ, продуцируемые другими тканями.

По всей вероятности, ПГ играют физиологическую роль в процессе *овуляции*, поскольку овуляторная реакция на ЛГ не развивается в присутствии ингибиторов синтеза ПГ. Это действие ПГ до сих пор не удается связать с системой цАМФ.

ПГ принимают участие в этиологии *дисменореи*. В матке женщин, страдающих от этих повторяющихся болей, обнаружена гиперпродукция ПГ, и в таких случаях широко применяются нестероидные ингибиторы циклооксигеназы.

Имеются данные о вариабельности продукции ПГ не только в разных клетках, но даже в одной и той же клетке в разное время и в разных условиях. Мурота и др. (Murota et al.) показали, например, что эстрогены повышают содержание простациклина в культуре клеток кровеносных сосудов, а старение сопровождается снижением его концентрации. Таким образом, отношение синтеза простациклина к синтезу других ПГ у особей женского пола широко варьирует в разные возрастные периоды. Эти данные позволяют понять, почему у женщин пременопаузального возраста редко встречаются дегенеративные поражения сосудов.

Тромбоциты и свертывание крови

Влияние ПГ на тромбоциты — это, безусловно, один из наиболее интересных из описанных до сих пор аспектов проблемы. Именно здесь следует ожидать наиболее важных для лечения и профилактики болезней результатов исследований. Изучение функций тромбоцитов необходимо для понимания причин не только тромбоэмболии, но и атеросклероза и его последствий.

Когда были доступны лишь стабильные ПГ, множество работ проводилось на тромбоцитах. Их результаты можно суммировать следующим образом:

1. *Увеличение* концентрации цАМФ препятствует агрегации тромбоцитов и высвобождению содержимого их плотных гранул (АДФ, серотонин).
2. Агрегация и выброс содержимого гранул происходят при низком уровне цАМФ.
3. ПГЕ$_1$ повышает уровень цАМФ, стимулируя аденилатциклазу (и ингибируя фосфодиэстеразу?).
4. ПГЕ$_2$ снижает уровень цАМФ, ингибируя циклазу, и тем самым способствует агрегации тромбоцитов и выбросу их содержимого.
5. Ингибиторы синтеза простагландинов препятствуют агрегации тромбоцитов и высвобождению содержимого гранул.

Таким образом, ПГ, различающиеся только одной двойной связью, оказывают противоположное действие на многие биологические процессы.

С открытием простациклина и тромбоксана некоторые ученые, например Горман (Gorman), вновь занялись проблемой ПГ — тромбоциты. Результаты их исследований схематически представлены на рис. 4-4. Установлено, что стенка кровеносного сосуда (интима) содержит ферменты, катализирующие синтез тромбоксана. Простациклин и тромбоксан обладают прямо противоположным действием на два принципиально важных процесса: простациклин расслабляет гладкую мускулатуру сосудистой стенки

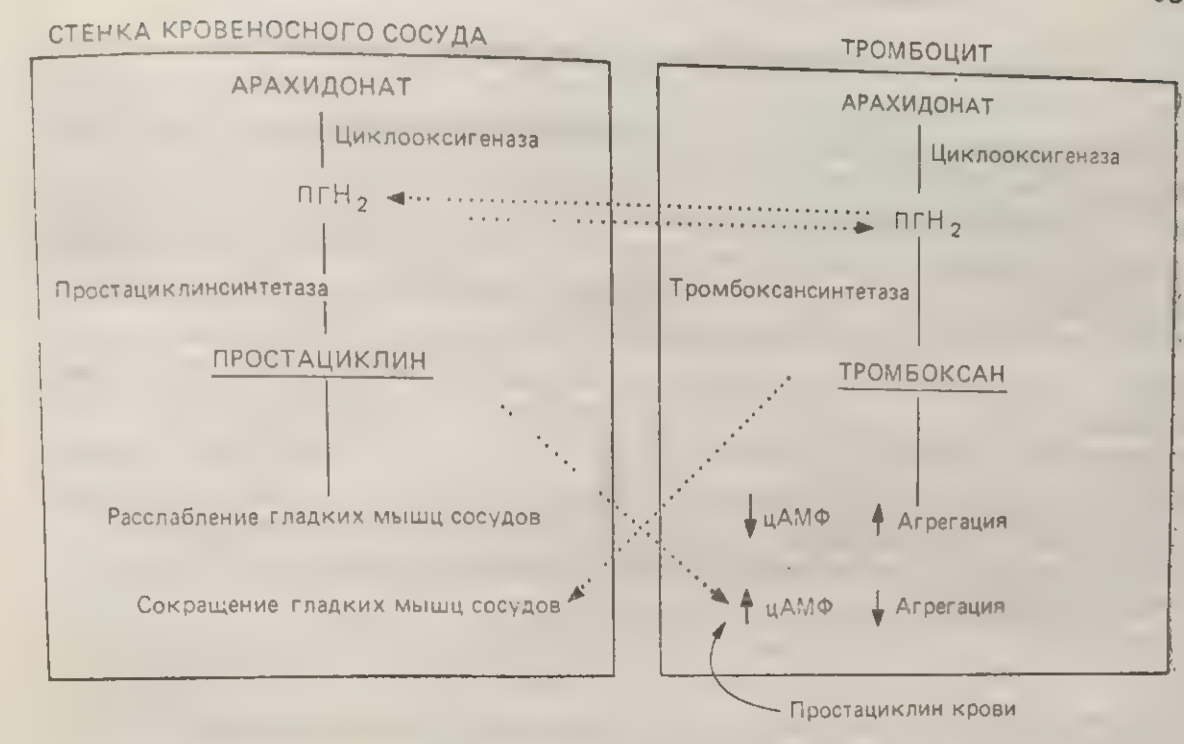


Рис. 4-4. Влияние тромбоксана и простациклина на агрегацию тромбоцитов. Пунктирными линиями указаны возможные взаимодействия.

и тормозит агрегацию тромбоцитов; тромбоксан, наоборот, сокращает гладкую мускулатуру сосудов и способствует агрегации тромбоцитов. Поскольку тромбоциты контактируют с сосудистой стенкой, вырабатываемые ими вещества могут в малых количествах диффундировать из одной структуры в другую (см. пунктирные линии на рис. 4-4). Более того, Монкада (Moncada) и Вейн (Vane) показали, что простациклин не инактивируется в легких, а циркулирует в крови, представляя собой постоянный антикоагулянтный «сигнал» для внутрисосудистых тромбоцитов.

Это имеет многочисленные последствия. Процесс свертывания крови можно рассматривать как классический объект физиологической регуляции, который поддерживается в состоянии равновесия противодействующими силами. В условиях патологии или под влиянием фармакологических средств это равновесие может сдвигаться в любую сторону. Кроме того, приведенная на рис. 4-4 модель включает в ранее описанную схему клеточной регуляции (основанную на взаимодействии кальция и цАМФ) дополнительные внутриклеточные модуляторы — простациклин и тромбоксан. Главный эффект тромбоксана заключается в мобилизации внутриклеточных запасов Ca^{2+}, который в свою очередь в основном и опосредует выброс содержимого и стимуляцию сократительных белков тромбоцитов. Простациклин, повышая уровень цАМФ, препятствует как мобилизации Ca^{2+}, так и синтезу тромбоксана.

Эндокринная система

Взаимодействия между ПГ и цАМФ наиболее отчетливо проявляются в работе эндокринной системы. В ответ на одни сигналы ПГ увеличивают уровень цАМФ в клетках и до некоторой степени имитируют эффекты ряда гормонов (ТТГ, АКТГ, ЛГ, ПТГ). В ответ на другие (например, действие липолитических гормонов на жировую ткань и АДГ на почки) — ПГ противодействуют гормональному стимулу и снижают уровень цАМФ. В настоящее время огромный материал, на котором основаны эти положения, пересматривается и дополняется. Например, были хорошо известны антилиполитические эффекты простагландинов группы Е, но не удавалось показать их влияние на аденилатциклазу. Однако Горман обнаружил, что $ПГН_2$ обладает прямым ингибирующим действием на этот фермент.

Влияние простагландинов на аденилатциклазу опосредуется $G_с$- и $G_и$-белками, о которых шла речь в гл. 3 (Aktories et al.). По-видимому, для каждого простагландина существует свой собственный стереоспецифический рецептор, полностью аналогичный гормональному рецептору. Иными словами, комплекс ПГ-рецептор может влиять на активность $G_с$- или $G_и$-белков.

Пищеварительная система

Влияние простагландинов на деятельность желудочно-кишечного тракта представляет особый интерес для исследователей, занимающихся данными веществами. Действительно, простагландины группы Е обладают многими свойствами идеального лечебного средства при пептических язвах: они снижают желудочную секрецию HCl и препятствуют развитию подобных язв в эксперименте. Ингибиторы синтеза простагландинов (например, ацетилсалициловая кислота) усиливают секрецию HCl и вызывают пептические язвы в эксперименте или способствуют их возникновению. Простагландины тормозят секрецию кислоты в желудке независимо от того, вызвана ли она гистамином, пентагастрином или приемом пищи.

Простагландины, особенно применяемый в гинекологии $ПГЕ_2$, обладают мощным стимулирующим действием на двигательную активность кишечника. Предполагается, что они принимают участие в осуществлении нормальной перистальтики.

Центральная и периферическая нервная система

Твердо установлено, что стабильные ПГ влияют на центральную и периферическую нервную систему. У некоторых видов животных под действием ПГ наблюдаются разнообразные реакции

(ступор, кататония, возбуждение). ПГЕ является мощным пирогеном и, кроме того, потенцирует температурную реакцию на введение других пирогенов. Следует заключить, поэтому, что ПГ могут играть определенную роль в терморегуляторной функции ЦНС. Препараты, ингибирующие синтез простагландинов, такие, как аспирин, предотвращают или ослабляют лихорадку. Пульсирующие головные боли, возникающие после введения ПГЕ человеку, относятся скорее к сосудистым, а не к нервным эффектам этих соединений.

Кожа

Сведения о влиянии ПГ на кожу ограничиваются в основном данными о повышении ее сосудистой проницаемости при воспалении. Однако здесь уместно вспомнить один интересный эксперимент, проведенный в 1930-х гг. разными учеными, не знающими о работах друг друга. Некоторые исследователи пытались снимать кожные симптомы, связанные с недостаточностью незаменимых жирных кислот, простагландинами, вводя их в организм различными путями. Однако все эти попытки оказались безуспешными. Хсиа и др. (Hsia et al.) исходили из того, что эти соединения метаболизируются слишком быстро, чтобы успеть оказать какое-либо влияние при подкожном или внутрибрюшинном введении. Поэтому крысам с экспериментальной недостаточностью незаменимых жирных кислот в ороговевшую и лишенную шерсти кожу одной лапы втирали содержащую простагландины мазь. Контролем служила другая лапа. Кожные поражения обработанной лапы исчезали. Это явно указывало на то, что по крайней мере одно из проявлений дефицита незаменимых жирных кислот определяется недостаточным синтезом простагландинов.

Продукты липоксигеназы: лейкотриены

История вопроса

Точно так же, как открытие простагландинов связано со случайными опытами по добавлению семенной жидкости к тканям матки in vitro, к открытию лейкотриенов (ЛТ) привели эксперименты, в которых яд кобры вводили в легкие собаки. В 1938 г., когда стимулирующий эффект гистамина на гладкую мускулатуру бронхов уже был хорошо известен, Фельдберг и Келлауэй (Feldberg, Kellaway) показали, что перфузия легкого собаки ядом кобры приводит к высвобождению мощного бронхосуживающего фактора, эффект которого сохраняется гораздо дольше, чем эффект гистамина. Эти авторы установили, что аналогичное вещество высвобождается и при действии антигена на легкие сен-

сибилизированной морской свинки. Чтобы отличить данный фактор от гистамина (быстро реагирующего вещества), он был назван *медленно реагирующим веществом* (МРВ).

В начале 1940-х гг. Броклехерст (Brocklehurst), обнаружив, что подобный фактор вырабатывается легочной тканью больных астмой при контакте с пыльцой растений, добавил к аббревиатуре МРВ букву А (от анафилаксия). Поскольку антигистаминовые средства при астме у человека обычно неэффективны, общая точка зрения свелась к тому, что именно МРВ-А вызывает спазм бронхов при данном заболевании.

В течение 1970-х гг. многие пытались установить химическое строение очищенного МРВ-А. В конце десятилетия было выяснено, что данное вещество растворяется в жирах и при двумерной хроматографии мигрирует вместе с арахидоновой кислотой. Синтез его макрофагами перитонеальной жидкости, стимулированными кальциевым ионофором А23187, возрастал при добавлении цистеина. Полученные данные позволяют считать, что МРВ-А является метаболитом арахидоновой кислоты.

Биосинтез и номенклатура

Направление исследований, начавшееся в 1938 г. экспериментом со змеиным ядом, развивалось в Стокгольме (Samuelsson et al.) параллельно с изучением метаболизма арахидоновой кислоты и синтеза простагландинов (см. выше). Исследователи из Каролинского Университета отдавали себе отчет в том, что не все метаболиты арахидоновой кислоты образуются из циклических эндоперекисей, но возможное биологическое значение линейных (т. е. нециклических) метаболитов оставалось мало изученным. Использовав клетки мышиной мастоцитомы, растущие в брюшной полости этих животных (было известно, что при инкубации с кальциевым ионофором А23187 эти клетки продуцируют МРВ-А), авторы показали, что как меченный ^{35}S-цистеин, так и меченная тритием арахидоновая кислота включаются в биологически активное МРВ-А. Подобные эксперименты стали возможными благодаря появлению нового высокоэффективного метода жидкостной хроматографии под высоким давлением, который оказался надежным способом определения биологически активных веществ (в том числе продуктов циклооксигеназной реакции). С помощью и других виртуозных приемов органической химии путь биосинтеза лейкотриенов был, наконец, выяснен (рис. 4-5).

Первым продуктом арахидоновой кислоты на липоксигеназном пути является 5-гидропероксиэйкозатетраеновая кислота — 5-ГПЭТЕК. (Гидропероксидированию могут подвергаться и другие углеродные атомы арахидоновой кислоты, но биологическое значение каких-либо метаболитов, кроме группы 5-ГЭТЕК, изу-

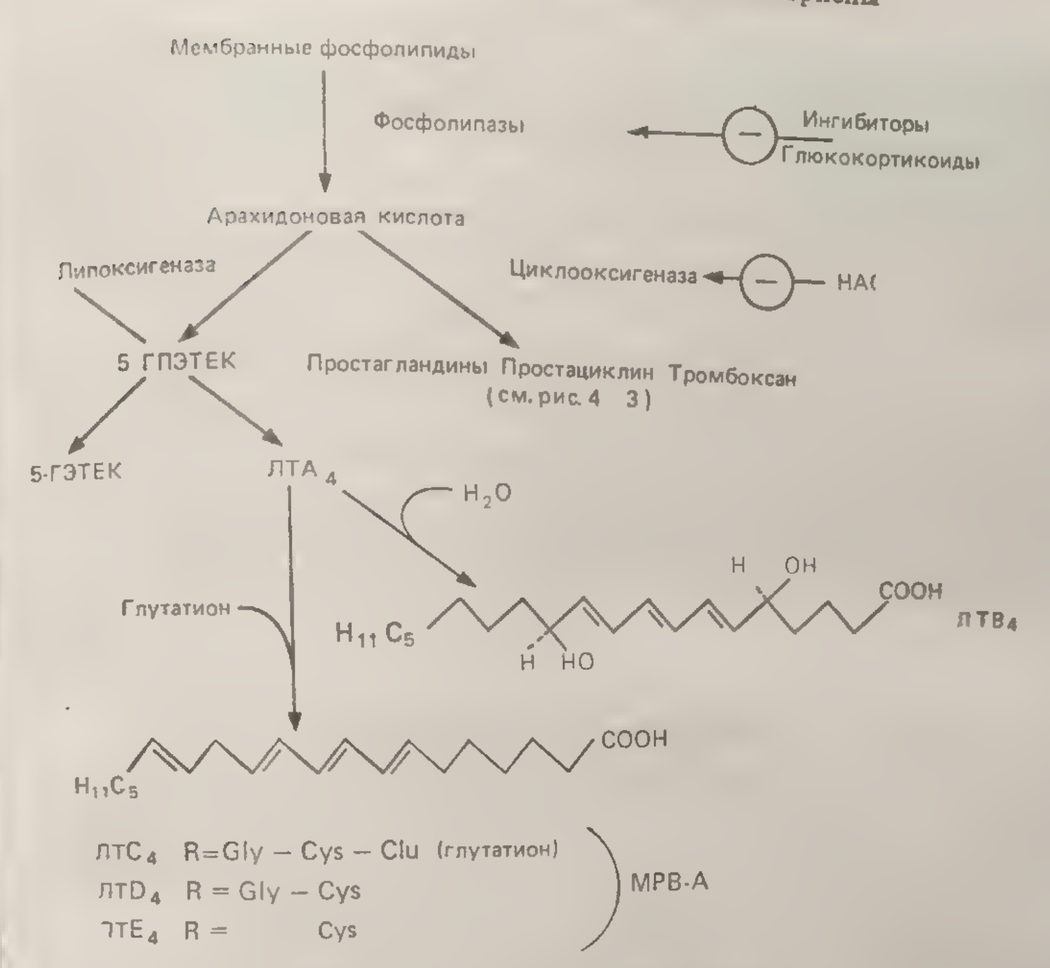


Рис. 4-5. Биосинтез лейкотриенов.

чено мало.) 5-ГПЭТЕК служит предшественником ЛТА$_4$, который в свою очередь трансформируется либо в ЛТВ$_4$, либо в SH-содержащие пептидные или аминокислотные конъюгаты — ЛТС$_4$, ЛТD$_4$ и ЛТЕ$_4$. Три последние соединения в совокупности являются МРВ-А; они секретируются тучными клетками, принимающими участие в реакциях гиперчувствительности. ЛТВ$_4$ изучен в основном как продукт и агонист лейкоцитов.

Биологические эффекты

Легкие

Гистамин представляет собой мощный стимулятор гладкой мускулатуры трахеи и бронхов, но эффект компонентов МРВ-А в 4000 раз сильнее. Тучные клетки реагируют на стимулы так же, как другие клетки на пептидные гормоны: они обладают аденилатциклазным механизмом, системой кругооборота полифосфатидилинозитола, способной генерировать диацилглицерол и инозитолтрифосфат, а также системой арахидоновой кислоты. Акти-

вация этой системы происходит через рецептор, представляющий собой иммуноглобулин класса E (IgE), запрограммированный на распознавание «не своего». Располагаясь на кожных и слизистых поверхностях, тучные клетки выполняют сторожевую функцию, сразу же отвечая на действие любого антигена, к которому они были сенсибилизированы, высвобождением содержимого своих гранул и секрецией МРВ-А. Данный ответ требует только связывания антигена (аналога гормона) с его рецепторным IgE. Выделяясь вблизи бронхиолярных гладкомышечных клеток, МРВ-А оказывает на них мощное стимулирующее действие; у больного астмой возникающая в результате констрикция бронхов может резко нарушить воздухообмен. Тяжесть состояния больного усугубляется стимулирующим влиянием лейкотриенов на секрецию бронхиальной слизи. При рассмотрении фармакологии метаболизма арахидоновой кислоты мы вернемся к этой проблеме.

Сердечно-сосудистая система

Эффекты ЛТC_4 и ЛТD_4 наблюдались в микрососудах, крупных сосудах и сердце. Компоненты МРВ-А увеличивают проницаемость мелких сосудов, а также действуют на гладкую мускулатуру артерий у некоторых видов животных. Описано и отрицательное инотропное влияние на сокращение сердечной мышцы параллельно со снижением коронарного кровотока. Сила сокращений миокарда снижается в большей степени, чем это могло бы определяться только уменьшением коронарного кровотока. Патофизиологическое значение перечисленных эффектов пока не изучено.

Желудочно-кишечный тракт

Входящие в состав МРВ-А соединения действуют на гладкую мускулатуру желудочно-кишечного тракта, хотя и не столь сильно, как бронхиол. Если в легких ЛТC_4 и ЛТD_4 обладают одинаковой активностью, то в желудочно-кишечном тракте ЛТD_4 оказывает больший эффект. Эти вещества увеличивают концентрацию Ca^{2+} в цитозоле клеток, но механизм или механизмы данного эффекта неизвестны.

Стимуляция синтеза простагландинов

Продукты, образующиеся по ходу одного из путей синтеза эйкозаноидов, могут стимулировать синтез и секрецию соединений, образующихся по ходу другого пути. В некоторых клетках

МРВ-А повышает продукцию простагландинов. Это может быть связано со способностью МРВ-А повышать $[Ca^{2+}]_ц$, поскольку ионы кальция активируют фосфолипазу A_2.

Воспаление, лейкоциты и $ЛТВ_4$

Воспаление представляет собой комплекс местных реакций на повреждение. Феноменология воспаления на морфологическом уровне в основном известна уже более 100 лет. Реакция характеризуется повышением проницаемости капилляров, местной вазодилатацией и скоплением лейкоцитов. Этот стереотипный ответ возникает при различного рода воздействиях, включая бактериальную инфекцию, механическую травму, локальную гипоксию, химические или физические повреждения, аллергические реакции и т. д. Важное участие в развитии воспаления принимают факторы свертывания крови и система комплемента, равно как и многие локально вырабатываемые медиаторы, включая гистамин, брадикинин, серотонин, катехоламины и др.

Хотя воспалительный процесс изучается очень давно, но существенный скачок в понимании его механизмов произошел благодаря открытию Хенчем и Кендаллом (Hench, Kendall) в 1949 году антивоспалительного эффекта глюкокортикоидных стероидных гормонов надпочечников и выяснению того факта, что аспирин — очень эффективное антивоспалительное средство — действует посредством блокады синтеза простагландинов (см. Vane, Нобелевская лекция). Вскоре было показано, что и стероиды надпочечников блокируют синтез простагландинов. Таким образом, стало ясно, что образование простагландинов представляет собой необходимое условие развития воспалительного процесса.

Простагландины, особенно $ПГЕ_2$, вырабатываются в очаге воспаления в больших количествах. Более того, они могут индуцировать воспалительную реакцию. Эти вещества усиливают эффекты гистамина, брадикинина и других «быстро» действующих медиаторов воспаления. Вызванное простагландинами воспаление удается наблюдать даже в условиях подавления действия гистамина и серотонина с помощью соответствующих фармакологических средств.

С открытием лейкотриенов значение метаболитов арахидоновой кислоты в развитии воспаления стало еще более очевидным. Воспаление не может развиться без участия лейкоцитов. В этом легко убедиться в опытах на собаках, получающих препараты, которые ингибируют образование и созревание лейкоцитов в костном мозге. Отсюда следует заключить, что поступление лейкоцитов в очаг воспаления, стимуляция их фагоцитарной активности по отношению к чужеродному материалу и клеточному дебрису, а также секреция ими лизосомных ферментов — составляют ин-

тегральную часть воспалительного процесса. Опять-таки, ответ лейкоцитов на разнообразные стимулы осуществляется точно так же (с включением многих однотипных биохимических механизмов), как ответ гормон-чувствительных клеток на действие гормона. Полиморфноядерные лейкоциты могут активироваться под влиянием бактерий (живых или мертвых), полистироловых частиц, комплемента 5а, хемотаксического трипептида (fMet-Leu-Phe), кальциевого ионофора A23187 и форболовых эфиров. Эффективность двух последних стимулов указывает на то, что активация лейкоцитов опосредуется повышением концентрации ионов Ca^{2+} в цитозоле клетки, и что для ответной реакции каким-то образом, вероятно, немаловажен кругооборот полифосфатидилинозитола. Некоторые из подобных стимулов вызывают увеличение концентрации цАМФ в клетке, что еще больше объединяет реакцию лейкоцитов с реакцией гормон-чувствительных клеток.

В настоящее время установлено, что $ЛТВ_4$ (см. рис. 4-5) является наиболее эффективным хемоаттрактантом для полиморфноядерных лейкоцитов. Более того, он воспроизводит большинство метаболических эффектов других стимуляторов лейкоцитов, включая дегрануляцию последних и высвобождение ими лизосомных ферментов. Обработка лимфоцитов $ЛТВ_4$ повышает их способность прикрепляться к поверхности эндотелия, что опять-таки увеличивает в них $[Ca^{2+}]_ц$. По-видимому, разные типы клеток могут регулировать количество вырабатываемых ими продуктов липоксигеназного пути в соответствии со своими индивидуальными потребностями, что иллюстрируется различным соотношением $ЛТВ_4 : ЛТС_4$; например, в нейтрофилах, моноцитах и макрофагах оно велико, а в эозинофилах и тучных клетках — мало.

(Антивоспалительное действие глюкокортикоидов надпочечников рассматривается в гл. 11.)

Некоторые практические аспекты

Как показано на рис. 4-3, аспирин, индометацин и другие нестероидные антивоспалительные средства блокируют циклооксигеназу, но не фосфолипазу A_2. В то же время глюкокортикоиды надпочечников препятствуют вступлению арахидоновой кислоты на оба пути метаболизма (см. рис. 4-5). Доступность арахидоновой кислоты лимитирует скорость синтеза продуктов обоих путей.

Этот факт создал привлекательную возможность объяснения приступов, вызываемых салицилатами, у больных бронхиальной астмой. При блокаде циклооксигеназного пути стимуляция фосфолипазы A_2 может приводить к усиленному образованию МРВ-А из-за повышенного вступления арахидоновой кислоты на единственно сохранившийся путь метаболизма.

Потенциальное значение этого обстоятельства для фармакологии широко изучалось и продолжает изучаться. Рассматриваемые препараты можно разделить на две группы: аналоги эйкозаноидов как агонисты и аналоги эйкозаноидов и другие вещества как антагонисты. К первой группе относятся ПГ, применяемые для индукции выкидышей в середине беременности и (в отдельных клиниках) для индукции родов. Другие аналоги испытываются в качестве потенциальных противоязвенных препаратов в гастроэнтерологии и как антигипертензивные средства. Значительные усилия предпринимаются и для поиска веществ второй группы, которые должны были бы ингибировать либо высвобождение MPB-A, либо его биологический эффект. Такие средства могли бы иметь немаловажное значение в терапии бронхиальной астмы у человека.

Нестероидные антивоспалительные средства, действующие путем ингибирования циклооксигеназы, принадлежат к наиболее широко применяющимся в мире препаратам, получаемым как по рецептам врачей, так и через свободную продажу.

Самые важные результаты описанных исследований видны, вероятно, в области профилактики агрегации тромбоцитов. Кровяные пластинки играют существенную роль не только в патогенезе тромбоэмболической болезни, но и в возникновении атеросклероза и, следовательно, развитии инсультов и инфарктов. Имеются обнадеживающие данные о том, что постоянный прием антисвертывающих препаратов может предотвратить или отсрочить нарушения мозгового кровообращения или возникновение тромбоза коронарных артерий. Идеальным средством в этом отношении мог бы стать длительно действующий аналог простациклина, который не только тормозил бы агрегацию тромбоцитов, но и обладал нужным сосудорасширяющим эффектом. Уже имеются сообщения об успешном применении аналогов простациклина при операциях на открытом сердце, требующих экстракорпорального кровообращения.

Теоретическая значимость рассмотренных в этой главе открытий была признана Комитетом по нобелевским премиям в 1982 году. Практическое использование изложенных данных не заставит себя ждать слишком долго.

Литература[1]

Aktories K., Schultz G., Jacobs K. H. (1983). Inhibitory regulation of adenylate cyclase by prostaglandins, Adv Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res., **12**, 283.

Chakrin L. W., Bailey D. M. (1984). The Leukotrienes: Chemistry and Biology, New York, Academic Press.

[1] См. примечание на с. 40.

Ford-Hutchinson A. W. (1985). Leukotrienes: Their formation and role as inflammatory mediators, Fed Proc., **44**, **25**.
Goetzl E. J. (1981). Oxygenation products of arachidonic acid as mediators of hypersensitivity and inflammation, Med. Clin. North Am., **65**, **809**.
Gorman R. R. (1979). Modulation of human platelet function by prostacyclin and thromboxane A_2, Fed. Proc., 38, 83.
Hammarström S. (1983). Leukotrienes, Ann. Rev. Biochem., **52**, 355.
Heyman M. A., Rudolph A. M., Silverman N. H. (1976). Closure of the ductus arteriosus in premature infants by inhibition of prostaglandin synthesis, N. Engl. J. Med., **295**, 530.
Johnson M., Carey F., McMillan R. M. (1983). Alternative pathways of arachidonate metabolism: Prostaglandins, tromboxane and leukotrienes, Essays Biochem., **19**, 40.
Karim S. M. M., Twissell R. R. (1968). Induction of labor with PGF_2, Br. Med. J., 4, 621.
Karim S. M. M., Filshei G. M. (1970). Therapeutic abortion using PGF_2, Lancet, 1, 157.
Kennedy I., Coleman R. A., Humphrey P. A. et al. (1983). Studies on the characterization of prostanoid receptors, Adv Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res., **11**, 327.
Krilis S., Lewis R. A., Corey E. J. et al. (1984). Specific binding of leukotriene C_4 to ileal segments and subcellular fractions of ileal smooth muscle cells, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **81**, 4529.
Lewis G. P., Piper P. J. (1975). Inhibition of release of prostaglandins as an explanation of some of the actions of anti-inflammatory corticosteroids, Nature, 254, 308.
Lewis R. A., Austen K. F. (1984). The biologically active leukotrienes: Biosynthesis, metabolism, receptors, function and pharmacology. J. Clin. Invest., **73**, 889.
Marcus A. J. (1984). The eicosanoids in biology and medicine, J. Lipid. Res., 25, 1511.
McGiff J. C., Wong P. Y.-K. (1979). Compartmentalization of prostaglandins and prostacyclin within the kidney: Implications for renal function, Fed. Proc., 38, 89.
Moncada S. (ed.) (1983). Prostacyclin, thromboxane and leukotrienes (series of essays), Br. Med. Bull., **39**, 208.
Murota S., Chang W.-C., Koshihara Y. et al. (1983). Importance of cyclooxygenase induction in the biosynthesis of prostacyclin, Adv Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res., **11**, 99.
Murphy R. C., Hammarstrom S., Samuelsson B. (1979). Leukotriene C: A slow reacting substance from murine mastocytoma cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **76**, 4275.
Oates J. A., Whorten A. R., Gerkeus J. F. et al. (1979). The participation of prostaglandins in the control of renin release. Fed. Proc., 38, 72.
Piper P. J. (1984). Formation and action of leukotrienes, Physiol. Rev., **64**, 744.
Samuelsson B. (1981). Prostaglandins, thromboxanes, and leukotrienes: Formation and biological roles, Harley Lect., **75**, 1.
Samuelsson B. (1983). Leukotrienes: Mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation (Nobel lecture), Science, 220, 568.
Terragno N. A., Terragno A. (1979). Prostaglandin metabolism in fetal and maternal vasculature, Fed. Proc., **38**, **75**.
Vane J. R. (1983). Adventures and excursions in bioassay: The stepping stones to prostacyclin (Nobel lecture), Br. J. Pharmacol., **79**, 821.
Vane J. R. (1983). Prostaglandins and the cardiovascular system, Br. Heart. J., 49, 405.

Часть III

НЕЙРОЭНДОКРИНОЛОГИЯ

Глава 5

Аденогипофиз

Некоторые хронологические вехи в изучении аденогипофиза

Дата		*Исследователи*
1679	Описана киста гипофиза у *Sepulchretum*	Бонет (Bonetus)
1886	Описан гигантизм (акромегалия) у человека	Мари (Marie)
1910	Обнаружено отставание гипофизэктомированных собак в росте	Кроу, Кушинг (Crowe, Cushing) Хоуменс (Homans)
1912	Описаны влияния гипофизэктомии на надпочечники, щитовидную и половые железы у собак	Ашнер (Aschner)
1914	Описан гипопитуитаризм у человека	Симмондс (Simmonds)
1921	Воспроизведен гигантизм у крыс путем инъекций грубых экстрактов гипофиза	Ивенс, Лонг (Evans, Long)
1924	Обнаружено благоприятное влияние гипофизэктомии на диабет, вызванный панкреатомией	Хуссей (Houssay)
1925	Предложен метод парафарингеальной гипофизэктомии и описаны ее последствия у крыс	Смит (Smith)
1929	Обнаружена базофильная аденома гипофиза у человека	Кушинг (Cushing)
1930—1933	Описана воротная система сосудов в гипофизе	Попа, Вислоцки (Popa, Wislocki)
1934	Обнаружено благоприятное влияние адреналэктомии на панкреатический диабет	Лонг, Люкенс (Long, Lukens)
1938	Воспроизведен диабет у животных путем введения экстрактов гипофиза	Янг (Young)
1939	Описан послеродовой некроз аденогипофиза	Шиен (Sheehan)
1940 и далее	Развитие нейроэндокринологии	Харрис, Эверетт (Harris, Everett), Хьюм, Сойер и др. (Hume, Sawyer)
1960 и далее	Применение радиоиммунологических методов при изучении гипофиза	Берсон (Berson), Ялоу (Yalow), Рот (Roth), Глик (Glick) и др.
1960 и далее	Выделение, очистка, идентификация и синтез рилизинг-факторов	Гийемен (Guillemin), Шелли (Schally) и др.

Еще 40 лет назад считалось общепринятым, что аденогипофиз (или передняя доля гипофиза) является относительно автономным органом, который, развиваясь из выпячивания первичной передней кишки, локализуется в турецком седле, где функционирует как «дирижер эндокринного оркестра». Неоднократные попытки продемонстрировать нервные связи между мозгом и аденогипофизом оказывались безуспешными. Ретроспективно легко найти множество публикаций как клинического, так и экспериментального порядка, которые указывают на существование связи между ЦНС и передней долей гипофиза. Сегодня же гипоталамус и гипофиз рассматриваются как части единой функциональной системы переключения информационных сигналов. Поэтому в настоящее время для гипофиза лучше подходит определение «концертмейстера эндокринного оркестра».

Недостающим звеном связи между мозгом и передней долей гипофиза оказалась, конечно, система воротных сосудов гипофиза, которые начинаются в срединном возвышении гипоталамуса и отводят от него кровь в синусоиды аденогипофиза. Обнаружение этих сосудов Попа и Вислоцки (Popa, Wislocki) (независимо друг от друга) способствовало разработке теоретической основы современных представлений о регуляции гипофизарной секреции.

Функционирование двух основных частей гипофиза — нейрогипофиза (задняя доля) и аденогипофиза — можно рассматривать только в совокупности с гипоталамическими структурами. Что касается задней доли, то она имеет отчетливые нейронные связи с двумя дискретными скоплениями нейронов — супраоптическим и паравентрикулярным ядрами. В телах этих нейронов синтезируются два различных пептида — окситоцин и вазопрессин,— которые перемещаются по аксонам в комплексе с белками-переносчиками и выделяются в кровь через нервные окончания. Эти пептидергические нейроны секретируют свои гормональные продукты непосредственно в системный кровоток. Задней доле гипофиза посвящена гл. 6.

Последствия гипофизэктомии

О последствиях гипофизэктомии можно судить, ознакомившись с основными функциями известных гипофизарных гормонов (табл. 5-1). Гипофиз необходим для *дифференцировки тканей, постнатального роста, адаптации к голоданию и многим видам стресса, а также для формирования полового поведения и половой функции.* Хотя он не является жизненно важным органом для индивидуума, но необходим для продолжения рода.

Отставание в росте, наблюдающееся после гипофизэктомии у молодых, быстро растущих животных обусловлено дефицитом многих гормонов, имеющих важное значение для нормального

Таблица 5-1. Гормоны аденогипофиза и их функции

Гормон	Функция
Гормон роста (ГР) = соматотропин = соматотропный гормон (СТГ)	Соматический рост; компенсаторная гипертрофия; углеводный и липидный обмен; работа почек
Кортикотропин, адренокортикотропный гормон (АКТГ)	Адаптация к голоданию, травматическому и другим стрессам; перераспределение питательных веществ в организме; поведенческие эффекты?
Тиреотропный гормон (ТТГ) = тиреотропин	Поддержание основного обмена; адаптация к холоду; развитие ЦНС
Лютеинизирующий гормон (ЛГ)	Оогенез и овуляция; стероидогенез
Гормон, стимулирующий интерстициальные клетки (ГСИК)	Секреция тестостерона; сперматогенез Оба пола? Поведенческие эффекты?
Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ)	Оогенез и рост фолликулов; сперматогенез
Пролактин (ПРЛ)	Лактогенный гормон. У индивидуумов мужского пола функция неизвестна
Интермедин, меланоцитстимулирующий гормон (МСГ)	Усиление пигментации кожи при действии солнечного света у некоторых людей

роста. К ним относятся: гормон роста, гормоны коры надпочечников, тиреоидные гормоны, половые гормоны.

Атрофия коркового слоя надпочечников происходит при недостаточности кортикотропина, который необходим для сохранения *пучковой зоны* коры надпочечников. *Клубочковая зона*, где образуются задерживающие соль минералокортикоиды, в определенной степени независима от стимулирующего эффекта АКТГ. Именно поэтому адреналэктомия, если не проводить лечения, оказывается смертельной, а гипофизэктомия — нет. Смерть двусторонне адреналэктомированных животных или человека с разрушенной корой двух надпочечников наступает в конце концов в результате потери натрия и задержки калия.

Вторичный гипотиреоз, который обусловлен отсутствием ТТГ, имеет много общих симптомов с первичным гипотиреозом (см. гл. 10). Сохранение фолликулярных клеток, продуцирующих тиреоидные гормоны, требует непрерывного поступления к ним ТТГ; способность адаптироваться к холоду тоже обеспечивается реакцией интактной гипоталамо-гипофизарной системы.

Вторичный гипогонадизм после гипофизэктомии развивается у представителей обоего пола. Если операции подвергают неполовозрелых животных любого пола, то гонады вообще не развиваются. Если же гипофизарная недостаточность возникает после полового созревания, функция гонад регрессирует.

Таблица 5-2. Клеточные источники гипофизарных гормонов

Тип клеток	Продукт	Световая микроскопия	Характеристика секреторных гранул (электронная микроскопия)	Примечания
Лактотрофы	ПРЛ	Ацидофилы	50—400 мкм	При беременности
Соматотрофы	ГР (СТГ)	—»—	300—400 мкм	
Тиреотрофы	ТТГ	Базофилы	50—100 мкм	Гипертрофия после тиреоидэктомии
Кортикотрофы	АКТГ β-ЛПГ (β-липотропин)	—»—	Размеры и плотность варьируют	
ЛГ-гонадотрофы	ЛГ[1]	—»—	Редкие	
ФСГ-гонадотрофы	ФСГ[1]	—»—	»	Крупные; вакуолизируются после кастрации
Несекреторные (стволовые)	—	Хромофобы	Мелкие, вариабельные	

[1]) Оба этих гормона с помощью иммунофлуоресцентной электронной микроскопии обнаруживаются в одних и тех же клетках. Другие клетки, по-видимому, содержат либо тот, либо иной гормон.

Развитие и функционирование молочных желез требуют совместного действия многих гормонов, секреция большинства которых либо прямо (пролактин), либо опосредованно (эстрогены, гормоны коры надпочечников) связана с активностью гипофиза.

Пигментация кожи зависит от постоянного присутствия гормона промежуточной доли гипофиза — интермедина (МСГ). У амфибий и некоторых рыб этот гормон выполняет гораздо более важную адаптивную функцию, чем у человека, хотя и у людей он участвует в механизме адаптивного потемнения кожи при солнечном освещении.

Практически невозможно описать функциональные особенности аденогипофиза как изолированной системы, поскольку он занимает центральное место в физиологии многих других эндокринных желез. Именно потому, что охарактеризовать гипоталамо-гипофизарные механизмы в целом, не упоминая надпочечники, щитовидную железу и гонады, нельзя, рассмотрение большинства данных о гипофизарных гормонах, действующих на эти железы-мишени, придется отложить. Данная глава посвящена описанию «взаимоотношений» между мозгом и гипофизом с упором на гипоталамические рилизинг-гормоны, гормон роста и некоторые родственные кортикотропину пептиды.

Клеточное происхождение гормонов гипофиза

Аденогипофиз, или передняя доля гипофиза, представляет собой не одну железу, а комплекс из шести желез, каждая из которых состоит из особого типа клеток и контролируется по-своему. Для определения конкретного типа клеток, секретирующего тот или иной гормон, применялись гистохимические, иммунофлуоресцентные и электронно-микроскопические методы (табл. 5-2). Многие признаки являются общими для всех клеток передней доли гипофиза.

1. Поскольку они не иннервируются волокнами от гипоталамуса, сигналы, контролирующие их секреторную активность, поступают через кровеносные сосуды воротной системы гипофиза.

2. Все гипофизарные клетки высвобождают белковые или гликопротеиновые гормоны из особых гранул, которые в ответ на соответствующий сигнал выбрасывают свое содержимое путем экзоцитоза.

3. За возможным исключением дофамина, гистамина и норадреналина, все известные стимуляторы и ингибиторы секреции гормонов гипофиза являются пептидами.

4. Вероятно, во всех случаях в механизме сопряжения стимула и секреции участвует кальций. В некоторых клетках секреторная реакция, по крайней мере отчасти, опосредуется цАМФ.

Химическая классификация гипофизарных и родственных плацентарных гормонов

Интересно, что гипофизарные и *плацентарные* гормоны (как белковые, так и гликопротеиновые) имеют гомологичные аминокислотные последовательности. Это обстоятельство, а также открытие морфиноподобных пептидов — эндорфинов и энкефалинов — позволяет предложить химическую классификацию гипофизарных и плацентарных гормонов, приведенную в табл. 5-3.

Эта классификация основана на следующих фактах:

1. Пептиды I группы являются продуктами протеолиза общего гликопротеинового предшественника — проопиомеланокортина с мол. массой 31 000, но сами гормоны — не гликопротеины.

2. Соматомаммотропины (II группа) обнаруживают выраженную гомологию аминокислотных последовательностей, а также содержат дисульфидные мостики; особенно структурно близки ГР и ПЛЧ, но все три гормона, по-видимому, произошли от общей предковой молекулы. Структурное сходство между пролактином и гормоном роста объясняет как некоторую лактогенную активность ГР, так и трудности, с которыми столкнулись специалисты в области химии пептидов при доказательстве независимого существования ПРЛ у человека.

Таблица 5.3. Связь гипофизарных и плацентарных гормонов

Группа	Гормон	Аминокислоты	Примерная мол. масса	Углеводы
I. Семейство кортикотропина (все гормоны образуются из общего предшественника — проопиомеланокортина с мол. массой 31 000)	МСГ	13 (АКТГ 1—13)	1650	0
	АКТГ (хорионический АКТГ)	39	4500	0
	β-ЛПГ	91	9500	0
	Эндорфины (из β-ЛПГ)	31		0
II. Соматомаммотропины (одна пептидная цепь; 2—3 S—S-связи)	Пролактин (ПРЛ)	198	23 000	0
	ГР (СТГ)	191	22 000	0
	Хорионический соматомаммотропин, плацентарный лактоген человека (ПЛЧ)	191	22 000	0
III. Гликопротеины (2 пептидные цепи: α — общая, β — имеет различное строение)	ФСГ	236	32 000	+
	ЛГ (также ГСИК)	98, β119	30 000	+
	Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ)	92, β139	57 000	+
	Тиреотропин	96, β113	28 000	+

3. Гликопротеиновые гормоны (III группа) подобны друг другу. Каждый из них состоит из двух пептидных цепей, причем для проявления биологической активности необходимы обе. Аминокислотный анализ показал, что α-цепи гормонов этой группы совершенно идентичны, но β-субъединицы имеют различные аминокислотные последовательности. Можно отделить субъединицы друг от друга и затем соединить их в гомологичные или гетерологичные пары. Ниже показаны результаты подобных экспериментов.

ТТГα + ТТГβ = Активный ТТГ,
ЛГα + ЛГβ = Активный ЛГ,
ХГЧα + ХГЧβ = Активный ХГЧ,
ЛГα или ХГЧα + ТТГβ = Активный ТТГ,
ТТГα или ХГЧα + ЛГβ = Активный ЛГ,
ТТГα или ЛГα + ХГЧβ = Активный ХГЧ.

Таким образом, α-субъединицы, по-видимому, взаимозаменяемы без нарушения функциональной активности гормона. Установле-

ние свойств субъединиц гликопротеиновых гормонов позволило получить антитела, способные избирательно связываться с β-субъединицами, что крайне важно для радиоиммунологического определения гормонов данной группы.

Гипоталамические гормоны с известной структурой

Физиологические методы исследования

Наши знания в области нейроэндокринологии — результат различных, но взаимодополняющих экспериментальных подходов, к которым, в частности, относятся:

1. Гипофизэктомия животных и пересадка гипофиза в другое место с хорошей васкуляризацией трансплантата.

2. Стимуляция секреции аденогипофизарных гормонов путем *раздражения* отдельных участков гипоталамуса с помощью стереотаксически вводимых электродов.

3. Блокада отдельных реакций передней доли гипофиза (например, секреции АКТГ, овуляции или гипертрофии щитовидной железы при торможении синтеза тиреоидных гормонов тиоурацилом) путем стереотаксически наносимых электролитических *повреждений* гипоталамуса.

4. Ингибирование секреции гормонов путем введения в гипоталамус либо очень маленьких кусочков органов-мишеней, либо гранул гормонов, вырабатываемых этими органами.

5. Анализ результатов селективного разрушения нервных волокон, идущих в гипоталамус и выходящих из него.

6. Картирование нейромедиаторов и гормональных рецепторов в гипоталамической области.

7. Анализ действия многих агонистов и антагонистов на секреторную функцию гипофиза.

8. Выделение, очистка, расшифровка структуры и синтез гипоталамических пептидов. Недавно это было сделано в отношении пяти предполагаемых гипоталамических пептидов (см. ниже). (Строение пептидов задней доли гипофиза было установлено еще в 1950-х гг.)

Распределение пептидергических нейронов в гипоталамусе изучали с помощью иммуногистохимических методов. Иногда в определенных участках гипоталамуса видны отчетливые скопления нейронов, содержащих определенный рилизинг-гормон, однако они не имеют столь четких границ, как в задней доле гипофиза, гормонам которой посвящена следующая глава. Часто в одном и том же месте располагаются различные пептидергические нейроны. Ниже перечислены зоны, в которых, как полагают, концентрируются отдельные рилизинг-гормоны и дофамин. ТРГ:

Таблица 5-4. Номенклатура гипоталамических регуляторных гормонов и предполагаемых факторов[1)]

Тривиальное название	Описательное название (гормон/фактор)	Сокращенное название
Вазопрессин	Антидиуретический гормон	АДГ, ВП
Окситоцин	Гормон, стимулирующий отделение молока	ОТ, ОКСТ
Тиреолиберин	ТТГ-рилизинг-гормон	ТРГ
Гонадолиберин	ЛГ/ФСГ-рилизинг-гормон	ЛГРГ, ЛГ/ФСГ—РГ, ГнРГ
Соматостатин	ГР (соматотропин)-рилиз-ингибирующий гормон	ГР—РИГ, С—РИГ
Соматокринин (соматолиберин)	ГР-рилизинг-гормон	ГРРГ (ГРРФ), СТГ—РГ
Пролактостатин	ПРЛ-рилиз-ингибирующий фактор (дофамин?)	ПИФ, ПРИФ
Пролактолиберин	ПРЛ-рилизинг-фактор	ПРФ
Кортиколиберин	АКТГ-рилизинг-гормон	КРГ (КРФ)
Меланостатин	МСГ-рилиз-ингибирующий фактор	МИФ, МСГ—РИФ
Меланолиберин	МСГ-рилизинг-фактор	МРФ, МСГ—РФ

[1)] Термин «гормон» используется для обозначения веществ, химическая структура которых известна; «фактор» — для веществ, структура которых неизвестна, но физиологические эксперименты указывают на их существование.

дорсомедиальное ядро (слабая концентрация); ГнРГ: спереди — область перегородки, преоптическая и супрахиазмальная области; более рострально — медио-базальная область гипоталамуса и серый бугор; КРГ: паравентрикулярное ядро, аркуатное и вентромедиальное ядра; соматостатин: широко распространен и перекрывается областями концентрации других рилизинг-гормонов; дофамин (ПИФ): тубероинфундибулярная дофаминергическая система.

Что касается ГнРГ, то передняя зона его накопления определяет циклическую секрецию гонадотропинов (при эстральном и менструальном циклах), а более ростральная зона контролирует их тоническую секрецию. Важным допущением здесь является то, что все эти пептидергические нейроны имеют сложные связи с ЦНС (см. ниже) и что все вырабатываемые ими продукты поступают в срединное возвышение, откуда пептиды буквально через воронку проникают в кровь воротной системы гипофиза и с ней поступают в этот орган.

Многие тонкие физиологические и фармакологические эксперименты, подобные перечисленным выше, доказывают существование приведенных в табл. 5-4 факторов. (Вещества известной химической структуры принято называть *гормонами*, химически неидентифицированные — *факторами*. Мы будем придерживать-

ТРГ (3)

pyroGlu-His-ProNH2

ГнРГ (ЛГ-РГ) (10)

pyroGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-GlyNH2

Овечий КРГ КРФ (41)

HSer-Gln-Glu-Pro-Pro-Ile-Ser-Leu-Asp-Leu-Thr-Phe-His-Leu-Leu-Arg-Glu-Val-Leu-Glu-Met-Thr-Lys-Ala-Asp-Gln-Leu-Ala-Gln-Gln-Ala-His-Ser-Asn-Arg-Lys-Leu-Leu-Asp-Ile-AlaNH2

Панкреатический ГР-РГ человека (44

HTyr-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Gly-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Met-Ser-Arg-Gln-Gln-Gly-Glu-Ser-Asn-Gln-Glu-Arg-Gly-Ala-Arg-Ala-Arg-LeuNH2

Соматостатин (14)

HAla-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-CysOH
S-S

Рис. 5-1. Структура гипоталамических пептидов.

ся такой номенклатуры, хотя большинство авторов продолжают пользоваться аббревиатурами ГРФ и КРФ, несмотря на то, что эти вещества не только охарактеризованы, но и синтезированы.)

Тиреотропин-рилизинг-гормон (ТРГ)

ТРГ представляет собой трипептид, аминокислотная последовательность которого показана на рис. 5-1. Синтезированный ТРГ обладает полной биологической активностью природного пептида. Данный гормон представляет собой чрезвычайно активное биологическое вещество; он эффективен уже в нанограммовых количествах. Хотя это и трипептид, он может всасываться в желудочно-кишечном тракте в биологически активной форме.

До выделения ТРГ считали, что каждый гипоталамический фактор должен быть клеточноспецифичным и влиять на секрецию только одного гипофизарного гормона. Однако ТРГ стимулирует секрецию не только ТТГ, но и пролактина. (Многие исследователи тем не менее полагают, что ТРГ — это не ПРФ, поскольку при некоторых условиях секреция ТТГ и пролактина явно не совпадает.) Более того, ТРГ может стимулировать и секрецию гормона роста у больных акромегалией. Подобно этому, на ГнРГ реагируют клетки не одного, а нескольких типов, а соматостатин ингибирует секрецию ТТГ так же, как и секрецию гормона роста. Биологическое значение таких перекрывающихся эффектов гипоталамических гормонов пока неясно.

ТРГ успешно применяется для дифференциальной диагностики первичного, вторичного и третичного гипотиреозов, что схематически изображено на рис. 5-2, хотя недостаточность одного лишь ТРГ является редкой формой гипотиреоза.

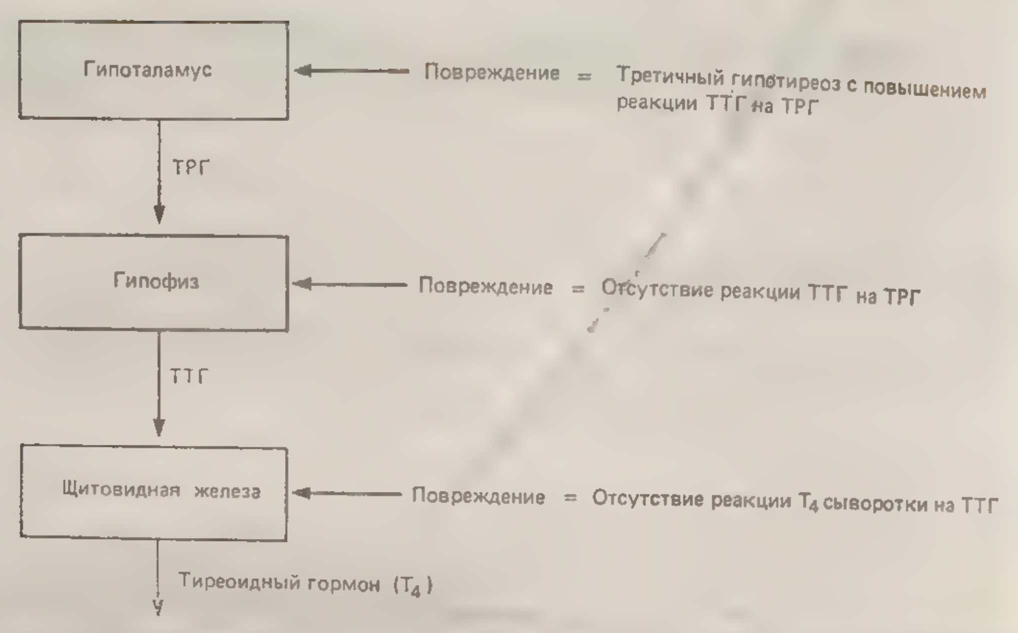


Рис. 5-2. Применение ТРГ и ТТГ для выяснения причины нарушения функции щитовидной железы.

Пониманию регуляторных механизмов обратной связи в значительной мере способствовало обнаружение ингибирующего влияния тиреоидных гормонов (ТГ) на вызываемую ТРГ стимуляцию тиреотрофов. Так, при недостаточности ТГ реакция тиреотрофов на ТРГ оказывается максимальной, что помогает понять причину высокого уровня ТТГ в крови в таких условиях. Ингибирующее действие ТГ на чувствительность тиреотрофов к ТРГ наблюдается лишь спустя определенное время, и для его проявления необходим синтез белка. Молекулярная основа индуцируемой ТГ резистентности к ТРГ неизвестна.

Гонадотропин-рилизинг-гормон (ГнРГ)

Вторым химически идентифицированным и синтезированным рилизинг-гормоном был ГнРГ — декапептид, строение которого показано на рис. 5-1. Подобно ТРГ, на N-конце он имеет остаток пироглутаминовой кислоты. И в этом случае было показано, что синтетический пептид обладает полной биологической активностью природного гормона. Разработка радиоиммунологического метода определения ГнРГ позволила обнаружить его даже в периферической крови женщин в середине менструального цикла, т. е. во время овуляторного выброса ЛГ. Многочисленные исследования экспериментальных животных и человека неоспоримо показывают, что широкие колебания секреции гонадотропинов в течение эстрального и менструального циклов отчасти связаны с изменением гипоталамической секреции ГнРГ. Действи-

тельно, как у экспериментальных животных, так и у человека внутривенное введение синтетического ГнРГ может вызвать овуляцию. Антитела к ГнРГ предотвращают секрецию гонадотропинов.

Разнообразные функциональные сдвиги, обусловленные нарушением секреции гонадотропинов — от психогенной аменореи до ложной беременности, — можно объяснить прекращением секреции ГнРГ под действием сигналов, исходящих из коры больших полушарий и других отделов мозга. Ниже мы попытаемся показать, как это происходит.

Расшифровка структуры ГнРГ позволила вернуться к вечной эндокринологической проблеме, т. е. к попыткам создать вещества с желаемыми свойствами путем синтеза аналогов природных гормонов. Химики синтезировали значительное число аналогов ГнРГ, и многие из них испытывались на разнообразных биологических моделях. Большинство интересных соединений было получено путем замещений у 2-го и 6-го атомов углерода и элиминации глицина^{10}. Синтезировано несколько веществ со свойствами «супер ГнРГ», одно из которых — des-gly^{10}, ethyl-pro^{9}-D-trp^{6} — оказалось в 144 раза активнее природного ГнРГ. Другие (например, то, в котором His^{2} замещен на D-Phe^{2}) оказались очень эффективными анти-ГнРГ-соединениями. Эта область особенно интересует исследователей, занимающихся проблемами бесплодия или совершенствования химических способов контрацепции. (Данные об импульсной, суточной и циклической секреции гипофизарных гормонов будут приведены ниже.)

Соматостатин (СРИФ)

В процессе поиска ГР-рилизинг-фактора Гийемен, Бразо, Вейл (Guillemin, Brazeau, Vale) и др. обнаружили фактор, ингибирующий секрецию ГР (соматотропина), которому они дали название СРИФ (соматотропин-рилиз-ингибирующий фактор). Поскольку более ранние физиологические эксперименты МакКанна (McCann) и др. указывали на существование такого фактора, группа под руководством Ла Джолла (La Jolla) выделила и очистила СРИФ, определила его аминокислотную последовательность, синтезировала его и продемонстрировала полную биологическую активность синтетического гормона. Вскоре после открытия СРИФ количество сообщений по данному вопросу стало лавинообразно нарастать.

Природный соматостатин (см. рис. 5-1) образован 14 аминокислотами и имеет форму петли, замкнутой S—S-мостиком между цистеинами в 3-м и 14-м положениях. Синтетическую молекулу получают в восстановленном (линейном) виде, но обе формы обладают одинаковой биологической активностью.

Хотя в гипоталамусе выявляются высокие концентрации соматостатина (а он впервые и был обнаружен по своей способности ингибировать секрецию ГР), вскоре выяснилось, что название ему присвоено преждевременно. Опыты на павианах дали неожиданные результаты: оказалось, что соматостатин ингибирует секрецию глюкагона (позднее это наблюдение подтвердилось и в отношении инсулина). Хотя соматостатин не влияет на секрецию пролактина или гонадотропинов, секреция ТТГ (как базальная, так и стимулированная ТРГ) в его присутствии тормозится. Очень скоро было показано, что этот замечательный пептид подавляет секрецию и многих других соединений: гастрина, секретина, желудочного ингибиторного пептида (ЖИП), вазоактивного интестинального пептида (ВИП), холецистокинина, кальцитонина, паратгормона, иммуноглобулинов, ренина. Уже неслучайно было установлено, что он подавляет и секрецию кислоты в желудке, секрецию бикарбоната и пищеварительных ферментов и всасывание глюкозы в кишечнике. Соматостатин тормозит двигательную активность желудочно-кишечного тракта и уменьшает кровоток в органах брюшной полости.

Этот пептид обладает и выраженным влиянием на ЦНС, вызывая поведенческие сдвиги, изменяя электрическую активность мозга и нарушая координацию движений. Введение соматостатина человеку оказывает седативный эффект, а микроионофоретическое введение его в мозг экспериментальных животных снижает активность нейронов.

Использование специфических антител для иммуноцитохимического анализа локализации соматостатина в клетках преподнесло еще один сюрприз. Высокие концентрации пептида обнаруживаются не только в нервных окончаниях срединного возвышения, но и в коре, среднем мозге, стволе мозга, спинном мозге и сенсорных ганглиях. Более того, продуцирующие соматостатин клетки (Δ-клетки) были найдены в островках Лангерганса, эпителии желудка и кишечника, а также среди парафолликулярных клеток щитовидной железы. Поскольку это вещество трудно обнаружить в крови, полагают, что оно действует паракринным путем, т. е., выделяясь специфическими клетками, влияет на соседние клетки посредством локальной диффузии. Только в гипоталамусе оно все же переносится кровью на небольшое расстояние от срединного возвышения. Тот факт, что соматостатин оказывает тоническое действие на секрецию гипофизарных гормонов, был установлен Унгером и др. (Unger et al.), которые продемонстрировали *повышение* секреции гипофизарных и кишечных гормонов после введения антител к соматостатину. В этих же опытах увеличение секреции гормонов поджелудочной железы отсутствовало.

Клеточные механизмы многочисленных биологических эффек-

тов соматостатина интенсивно изучаются, но пока нельзя предложить полностью удовлетворяющую фактам теорию. Единственной общей чертой перечисленных выше эффектов, включая торможение секреторных процессов, снижение активности гладкой мускулатуры и нейронов, является участие в них кальция. Считают, что соматостатин каким-то образом влияет на транспорт кальция, что в свою очередь изменяет активность различных клеток.

Соматостатин применяют для изучения метаболизма пищевых веществ, и одно время существовала надежда на возможность его использования как дополнительного лечебного средства при сахарном диабете. Некоторые основания для подобного применения этого пептида приведены в гл. 14. Здесь же достаточно сказать, что разнообразие и повсеместность биологических эффектов соматостатина не позволяют рассчитывать на его терапевтическое использование в ближайшем будущем, хотя можно предположить, что направленные изменения структуры гормона для придания ему более избирательного действия когда-нибудь и создадут такую возможность.

Соматостатин — *первый биологический продукт млекопитающих, полученный с помощью бактерий* (см. Itakura et al.). (О роли соматостатина в регуляции секреции ГР по механизму обратной связи см. раздел, посвященный соматокринину.)

Пролактин-ингибирующий фактор

Для создания вектора экспрессии белка, содержащего 56 аминокислот и ассоциированного с ГнРГ (ГАБ), была использована клонированная последовательность комплементарной ДНК белка-предшественника ГнРГ (Nicolics et al.). Оказалось, что ГАБ является высокоактивным ингибитором секреции пролактина и мощным стимулятором секреции гонадотропинов в культуре клеток гипофиза крысы. Хотя в отношении физиологического значения ГАБ высказывались некоторые сомнения, но тот факт, что активная иммунизация крыс ГАБ (т. е. стимуляция образования антител к ГАБ) сопровождается резким увеличением секреции пролактина, производит большое впечатление. С помощью иммунологических методов это вещество было обнаружено в гипоталамусе и других отделах мозга, а также в плаценте (в связанной с ГнРГ форме). Часто, хотя и не всегда, между секрецией пролактина и гонадотропинов существуют реципрокные отношения. Заманчиво поэтому предположить, что совместная секреция ГнРГ и ГАБ одними и теми же клетками представляет собой один из механизмов координированной регуляции секреции двух разных гормонов гипофиза.

Кортикотропин-рилизинг-гормон (КРГ, КРФ, кортиколиберин)

Поиски веществ гипоталамического происхождения, стимулирующих гипофиз, основаны на постулате о наличии АКТГ-рилизинг-фактора (кортикотропин-рилизинг-фактора, КРФ). О существовании КРФ свидетельствовали эксперименты Дж. Харриса и др. (Harris et al.), которые показали, что перерезка ножки гипофиза вызывает атрофию надпочечников; электрическая стимуляция определенных зон гипоталамуса вызывает секрецию АКТГ, а имплантация гипофиза под гипоталамус более эффективно восстанавливает функцию надпочечников, чем его имплантация в какой-либо иной участок тела (Nikitovich-Winer). Большинство таких работ было выполнено до 1950 г. В 1955 г. Портер (Porter) обнаружил активность КРФ в воротной крови гипофиза гипофизэктомированных собак, находящихся в состоянии стресса; кровь из сонных артерий тех же собак не обладала подобной активностью.

В 1955 г. Гийемен и Розенберг (Rosenberg), а также Саффран (Saffran) и Шелли (Schally) независимо друг от друга описали секрецию АКТГ фрагментами гипофиза при инкубации их с кусочками гипоталамуса in vitro. Хотя в течение следующего двадцатипятилетия на скотобойнях было собрано огромное количество гипоталамусов, КРФ не удалось выделить и химически охарактеризовать. Прекрасное описание этих «бесплодных» лет дано Вейдом (Wade). Тем не менее поиски КРФ привели к получению важных побочных продуктов: были очищены, охарактеризованы и синтезированы ТРГ, соматостатин и ГнРГ; за эти открытия Гийемен и Шелли в 1977 г. удостоены Нобелевской премии.

В 1981 г. Вейл и др. (Vale et al.) из гипоталамусов овец выделили, очистили и синтезировали пептид, состоящий из 41 аминокислоты, который стимулировал секрецию АКТГ клетками гипофиза в концентрации всего 0,1 нМ. Ривьер и др. (River et al.) очистили КРГ крысы и установили его аминокислотную последовательность, а Нума и др. (Numa et al.) на основании последовательности ДНК клонированного гена КРГ расшифровали аминокислотную последовательность КРГ человека. В этом отношении человек «ближе» к крысе, чем к овце, поскольку аминокислотная последовательность КРГ человека полностью совпадает с таковой у крысы и отличается от КРГ овцы 7-м и 41-м аминокислотными остатками. Пептиды млекопитающих имеют значительный процент гомологии с некоторыми филогенетически древними пептидами рыб и амфибий, с которыми их объединяет, кроме того, и способность снижать артериальное давление (хотя и в дозах, настолько превышающих необходимые для стимуляции

секреции АКТГ, что это не может иметь физиологического значения).

О том, что очищенный или синтетический КРГ действительно является физиологическим агонистом, свидетельствует резкое снижение реакции АКТГ на стандартный стресс у животных, которым вводили антитела к этому пептиду (или синтетические антагонисты КРГ).

Ученые давно знали, что некоторые хорошо известные нейромедиаторы и гормоны обладают слабым эффектом КРГ. К ним относятся адреналин, норадреналин, антидиуретический гормон (АДГ), окситоцин и ангиотензин II. Установлено, что все они усиливают реакцию гипофиза на КРГ как in vivo, так и in vitro. На других моделях было показано, что все эти факторы повышают внутриклеточную концентрацию ионов Ca^{2+}. Это и может объяснять их синергизм с действием главного стимулятора секреции. Комплекс нервных и эндокринных реакций на стресс рассматривается в гл. 11.

Механизм действия

КРГ вызывает быстрое накопление цАМФ в клетках гипофиза и некоторых опухолевых линиях гипофизарных клеток. При длительном действии КРГ наблюдалась десенситизация клеток. Поскольку глюкокортикоиды надпочечников ингибируют секрецию АКТГ, вызываемую как КРГ, так и дибутирил-цАМФ (дбцАМФ), считают, что ингибирующий эффект стероидов сказывается главным образом на экзоцитозе секреторных гранул. Все имеющиеся данные указывают на участие ионов Ca^{2+} как в этом, так и в большинстве других процессов секреции.

Применение в медицине

Эффекты КРГ-41 у человека оценивались несколькими исследовательскими группами (см. Chrousos). Примечательно, что внутривенное введение этого вещества человеку в дозе всего 0,03 мкг/кг массы тела вызывает существенное повышение уровня иммунореактивного АКТГ в крови. При этом содержание АКТГ в гипофизе становится исчезающе малым.

Наиболее широкое применение этот пептид нашел в дифференциальной диагностике гипофизарной и гипоталамической недостаточности АКТГ, точно так же, как с помощью ТРГ дифференцируют причины гипотиреоза (см. рис. 5-2). Определение КРГ иммунологическими методами способствует, конечно, диагностике и эктопического АКТГ-синдрома. Не исключено, что аналоги КРГ, ингибирующие его эффект, окажутся полезными в качестве терапевтических средств при некоторых заболеваниях, характе-

ризующихся гиперфункцией надпочечников. Имеются указания на то, что одновременное введение ТРГ, ГнРГ, КРГ и соматокринина (см. след. разд.) является информативным комбинированным тестом на функцию гипофиза (Sheldon et al.).

Соматокринин (ГР-РГ, ГР-РФ, СТГ-РГ)

О расшифровке структуры ГР-РГ было объявлено примерно 20 лет назад, и мы поспешили включить установленную аминокислотную последовательность в одно из предыдущих изданий этой книги. К сожалению, этот «ГР-РГ» оказался артефактом — фрагментом гемоглобина, и поиски были возобновлены. Побочным эффектом данной работы явилось открытие соматостатина. ГР-РГ же присутствовал в экстрактах гипоталамуса в столь малых концентрациях, что его не удавалось идентифицировать вплоть до 1982 г., когда, наконец, две группы исследователей под руководством Гийемена и Ривьера (Rivier) одновременно объявили об очистке, выяснении свойств и синтезе высокоактивного ГР-РГ.

Этот успех был достигнут с помощью «природного эксперимента». Клиницисты многие годы интересовались феноменом *эктопической продукции гормонов* различными опухолями. Например, опухолевая ткань легких может вырабатывать АКТГ, вызывая синдром Кушинга, а другие опухоли способны секретировать большие количества АДГ (см. следующую главу). Хотя молекулярные механизмы опухолевой продукции гормонов точно не выяснены, логично объяснить ее дедифференцировкой клеток (см. Baylin, Mendelsohn) в процессе их злокачественного перерождения. В норме «молчащие» фрагменты ДНК начинают интенсивно экспрессироваться с образованием мРНК определенного гормона, причем этот процесс не ингибируется по механизму обратной связи.

Одна из таких (редких) опухолей поджелудочной железы сопровождается синдромом акромегалии (избыточной продукции гормона роста — ГР) у больных без всяких признаков увеличения гипофиза. Две группы исследователей под руководством Гийемена и Ривьера получили образцы ткани данных опухолей и показали, что их экстракты в 5000 раз (в расчете на 1 мг влажной массы ткани) активнее стимулируют секрецию иммунореактивного ГР клеточной культурой гипофиза крысы, чем экстракты гипоталамуса этих животных. Обеим группам удалось очистить, охарактеризовать и синтезировать высокоактивный ГР-РГ из панкреатических опухолей. Вещество, полученное Гийеменом, представляет собой пептид, состоящий из 44 аминокислотных остатков (см. рис. 5-1, панкреатический ГР-РГ человека — пГР-РГч-44). Основной пептид, полученный Ривьером, насчитывает

40 аминокислотных остатков, идентичных первым 40 остаткам ГР-РГ-44, но активностью обладает и фрагмент, состоящий из 37 аминокислот. В дальнейшем был выделен и *гипоталамический* ГР-РГ у шести видов, включая человека, причем у пяти из них он состоит из 44 аминокислот. Исключение составили крысы, гипоталамический ГР-РГ которых содержит 43 аминокислотных остатка. Пептиды, выделенные из гипоталамуса и панкреатической опухоли человека, идентичны. Аминокислотные последовательности гипоталамических ГР-РГ животных отличаются от человеческого ГР-РГ 3—12 аминокислотными остатками. In vitro ГР-РГ-44 человека активнее ГР-РГ-40, но при одномоментном внутривенном введении их активность одинакова. По-видимому, нативным гипоталамическим гормоном является форма, состоящая из 44 аминокислотных остатков, тогда как меньшие пептиды — это артефакты, получаемые в процессе выделения и очистки.

ГР-РГ структурно связан с семейством глюкагона-секретина, т. е. пептидными гормонами желудочно-кишечного тракта, хотя последнее название себя уже не оправдывает, поскольку все данные гормоны обнаружены в ЦНС и других тканях организма [см. обзор Кригера (Krieger)]. К этим пептидным гормонам относятся ВИП (вазоактивный интестинальный пептид), ЖИП (желудочный ингибиторный пептид) и ПГИ (пептид гистидин-изолейцин). ВИП присутствует в гипоталамусе и может синергично с ГР-РГ стимулировать секрецию ГР подобно тому, как синергично действуют АДГ и КРГ (см. выше).

ГР-РГ, как и другие известные гипоталамические гормоны, является крайне активным агонистом. На тест-системе гипофизарных клеток in vitro его дозозависимый эффект наблюдается в интервале концентраций 0,003—1,0 нМ. При внутривенном введении человеку в дозе 1 мкг/кг он может повышать уровень ГР в сыворотке в 10 раз.

Регуляция ответной реакции соматотрофов на ГР-РГ

Глюкокортикоиды надпочечников увеличивают, а адреналэктомия уменьшает секреторную реакцию ГР на ГР-РГ. Тиреоидный гормон трииодтиронин (T_3) тоже усиливает реакцию на ГР-РГ. Более того, показана синергичность в действии дексаметазона (стероида надпочечников) и T_3 на стимуляцию транскрипции мРНК ГР в опухолевых клетках гипофиза, секретирующих ГР.

Главным *ингибитором* реактивности питуицитов по отношению к ГР-РГ является *соматостатин.* Он играет и основную роль в торможении гипофизарной секреции ГР по механизму обратной связи, которая, как считается в настоящее время, опосредуется *соматомедином*, усиленно вырабатывающимся под действием ГР

(см. ниже). Показано, что *соматомедин С* является мощным стимулятором секреции соматостатина тканью базального гипоталамуса in vitro. Эта изящная модель in vitro точно воспроизводит события, которые могли бы иметь место у человека, поскольку теперь известно, что соматомедин С стимулирует секрецию соматостатина и у людей in vivo.

Клеточный механизм действия ГР-РГ и соматостатина

ГР-РГ стимулирует как секрецию, так и синтез ГР. Этот эффект опосредуется связыванием ГР-РГ с рецепторами плазматической мембраны соматотрофов и активацией трех систем посредников, описанных в гл. 3. В гипофизарных клетках ГР-РГ дозозависимо увеличивает содержание цАМФ и секрецию ГР. Секрецию ГР стимулируют также дб-цАМФ и кальциевый ионофор. Для проявления эффекта ГР-РГ требуется присутствие ионов Ca^{2+}; показано также значение кругооборота фосфатидилинозитола в механизме действия этого рилизинг-фактора. После введения ГР-РГ наблюдается стимуляция синтеза мРНК ГР. Все эти эффекты опосредуются, по-видимому, фосфорилированием и дефосфорилированием определенной группы субстратов протеинкиназ, хотя ни один из этих субстратов пока не идентифицирован.

24-часовая инкубация культуры гипофизарных клеток с соматостатином полностью ликвидирует способность ГР-РГ или дб-цАМФ стимулировать секрецию ГР. Таким образом, хотя имеются данные о снижении уровня цАМФ под действием соматостатина, ингибирующее влияние последнего на секрецию ГР в основном осуществляется без участия системы образования цАМФ. Молекулярный механизм, посредством которого соматостатин препятствует процессам экзоцитоза, опосредуемым ионами Ca^{2+}, точно не известен.

Клиническое применение

Подобно другим гипоталамическим гормонам, ГР-РГ можно использовать в диагностических целях для оценки способности гипофиза реагировать на специфический стимул. Уже имеется положительный опыт применения этого пептида для стимуляции роста низкорослых детей с дефицитом ГР, сохранивших способность реагировать на ГР-РГ достаточным повышением уровня ГР в сыворотке. Интересно, что рилизинг-гормон вводился с помощью программируемого насоса, выбрасывающего дозу ГР-РГ с регулярными интервалами, имитируя тем самым физиологическую импульсную стимуляцию гипофиза. Такой подход может оказаться наилучшим при лечении группы детей с дефицитом ГР, гипофиз которых сохранил реактивность по отношению к ГР-РГ.

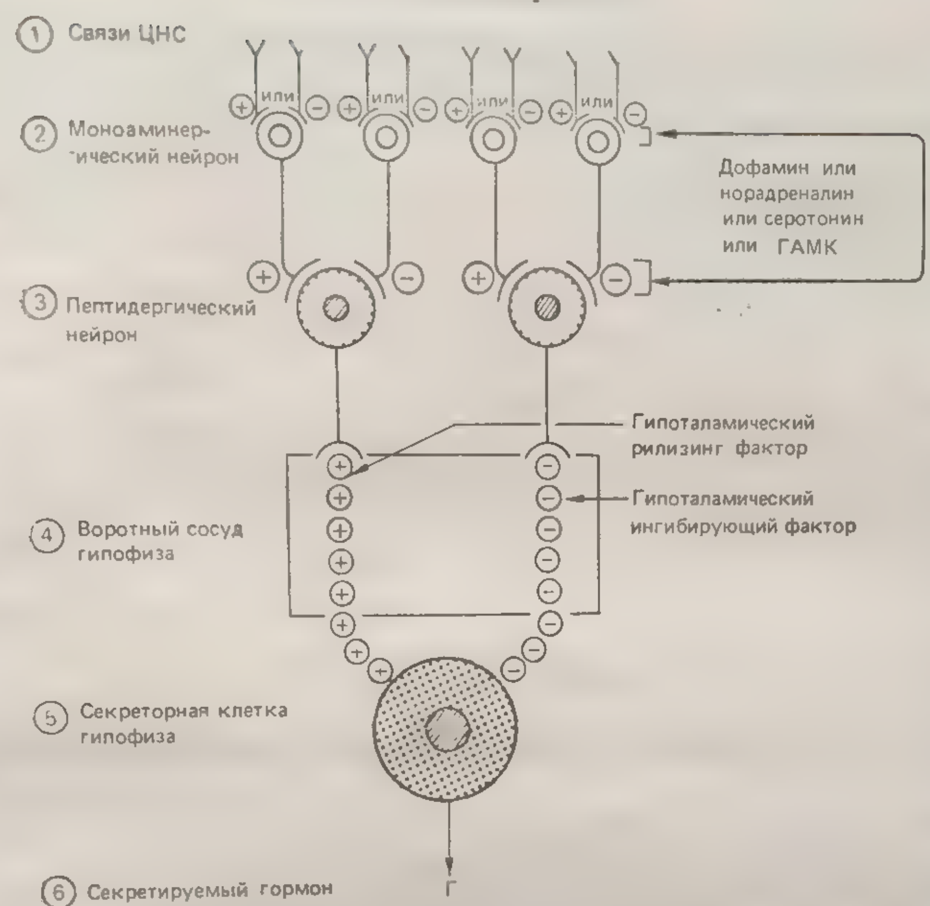


Рис. 5-3. Схема системы регуляции отдельной клетки передней доли гипофиза. ГАМК — γ-аминомасляная кислота.

Организация и нервные связи гипоталамо-гипофизарной системы

Множество экспериментальных фактов свидетельствует о существовании в организме некой системы, схематически изображенной на рис. 5-3. Начав рассмотрение с отдельной секреторной клетки гипофиза (5), выделяющей определенный гормон, можно убедиться в том, что скорость его секреции определяется соотношением положительных и отрицательных воздействий (6). Секреция может возрастать при увеличении первых или ослаблении вторых; для торможения секреции должны произойти противоположные изменения данных воздействий. Таким образом, главной детерминантой скорости секреции гормона является баланс между стимулирующим и ингибирующими сигналами. С другой стороны, на секреторную активность клетки влияет ее *чувствительность* к действию гипоталамических пептидов. Например, чувствительность гипофиза к стимуляции ГнРГ существенно возрастает в период выброса ЛГ в середине цикла. Подобно этому,

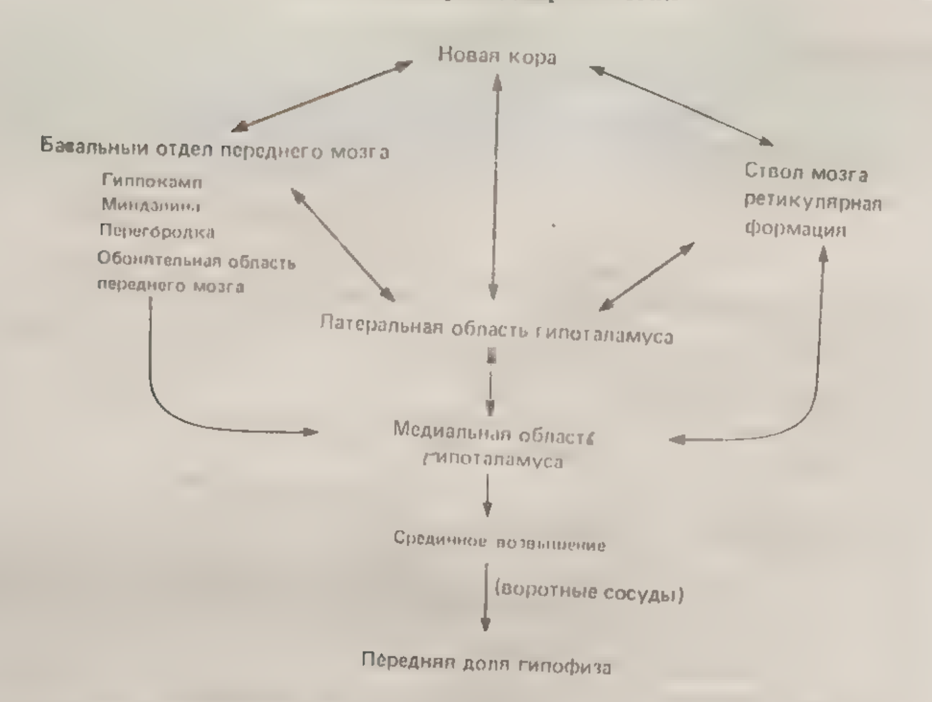


Рис. 5-4. Связи медиальной области гипоталамуса с другими отделами ЦНС.

чувствительность тиреотрофов к ТРГ резко снижается под влиянием тиреоидных гормонов. Поскольку секреторная клетка гипофиза лишена иннервации, ее активность стимулируется или ингибируется гипоталамическими пептидами, которые поступают к ней с кровью воротной системы.

Пептидергический нейрон (3), независимо от того, секретирует ли он стимулирующий или ингибирующий пептид, активируется или тормозится под влиянием сложной сети моноаминергических нейронов. Известны по меньшей мере три моноамина (дофамин, норадреналин, серотонин), которые принимают участие в регуляции пептидергических нейронов гипоталамуса; предполагается роль и еще одного — γ-аминомасляной кислоты (ГАМК). Выяснение возможности действия норадреналина, по крайней мере через два вида рецепторов (α и β), еще больше усложнило проблему. Какой сигнал — положительный или отрицательный — поступит от моноаминергического нейрона к пептидергическому нейрону (нейронам), зависит от информации, получаемой моноаминергическим нейроном от ближайших и отдаленных нейронов ЦНС (1). Они расположены в среднем мозге или стволе мозга и сами являются моноаминергическими. На рис. 5-4 мы попытались показать, что медиальный гипоталамус связан со всеми отделами ЦНС. Так, путь, по которому передается информация, связанная со сном, может начинаться в различных отделах и использовать разные моноаминергические ме-

диаторы, в том числе принимающие участие в передаче сигналов, связанных с состоянием крайнего испуга. Более того, оба пути могут определять появление медиатора, стимулирующего пептидергический нейрон.

Даже не пытаясь понять детали всех этих связей, легко представить себе, как тревога во время студенческих экзаменов вызывает секрецию АКТГ или как воздушная бомбардировка европейских городов приводила к массовым нарушениям менструального цикла, влияя на регуляцию секреции гонадотропинов.

Мы проследили за регуляторными воздействиями мозга на одну гипофизарную клетку, но гипофиз — не однородная железа. Чтобы представить себе сложность регуляции отдельных типов клеток гипофиза, нужно проанализировать рис. 5-3 и умножить эти данные по крайней мере на шесть. Для каждого типа гипофизарных клеток существует система регуляции, не менее сложная, чем изображенная на схеме. Каждая клетка по-своему реагирует на поступающую к ней с кровью смесь гипоталамических пептидов. Кроме того, каждый пептидергический нейрон гипоталамуса является частью своей собственной нейронной цепи в ЦНС. *Высокая избирательность, с которой гипофиз секретирует отдельные гормоны, обусловлена определенным сочетанием нервных и гуморальных сигналов.* Невообразимая сложность этой проблемы еще усугубляется тем, что клетки паравентрикулярного и супраоптического ядер, которые представляют собой пептидергические нейроны и секретируют АДГ и окситоцин, чрезвычайно похожи на гипоталамические пептидергические нейроны. Гуморальные и нервные механизмы, которые контролируют секреторную функцию задней доли гипофиза, столь же сложны, как и показанные на рис. 5-3.

В экспериментах in vivo и in vitro (совместная инкубация гипоталамуса и гипофиза) можно оценить роль различных моноаминов в стимуляции выброса гипофизарных гормонов. В табл. 5-5 суммированы данные многих авторов. При введении дофамина, норадреналина или серотонина возникают изменения скорости секреции отдельных гормонов гипофиза. Один и тот же моноамин может стимулировать секрецию двух и более гормонов или стимулировать секрецию одного из них и подавлять секрецию другого. Секреция гормона роста опосредована различными нейромедиаторами (см. следующий раздел).

Избирательная регуляция отдельных функций гипофиза

Сложной проблеме *дифференцированного* контроля отдельных функций гипофиза посвящено множество работ, основанных на радиоиммунологических методах определения гормонов. Использовались разнообразные методические подходы и раз-

Таблица 5-5. Эффекты нейромедиаторов и опиоидных пептидов на секрецию гормонов гипофиза[1)]

Агонист	ГР	ТТГ	ЛГ, ФСГ	АКТГ	ПРЛ
Норадреналин	+	+	+	−	−
Ацетилхолин			+	+	+
Дофамин	+	−	+	−	+
Серотонин	+	−	−	+	+
ГАМК	+	−	+	−	−
Гистамин		+	+	+	+
Опиоиды (энкефалины и эндорфины)	+		−		−

[1)] По D. T. Krieger, S. Rechlin et al. + стимуляция секреции гормона агонистом; — торможение. Пробел означает либо противоречивость данных, либо отсутствие сведений.

личные объекты исследования: 1) тесты in vitro с совместной инкубацией тканей или клеток гипоталамуса и гипофиза; 2) тесты in vivo с микроинъекциями разных веществ непосредственно в гипоталамус или в мозговые желудочки; 3) применение фармакологических средств или аналогов нейромедиаторов, будь то агонисты, имитирующие эффекты нейромедиаторов, или антагонисты, противодействующие их эффектам.

Некоторое представление о трудностях, возникающих при интерпретации результатов подобных экспериментов, может дать то обстоятельство, что один и тот же агонист (например, норадреналин) иногда вызывает противоположные изменения в секреции гипофизарных гормонов в зависимости от способа его введения (например, гормон можно вводить прямо в гипоталамус или в мозговой желудочек). Некоторые агонисты, такие, как дофамин, гистамин и норадреналин, могут непосредственно воздействовать на клетки гипофиза. Неудивительно, что во многих случаях публикуются прямо противоположные данные.

Сложные регуляторные механизмы, изучавшиеся такими ненадежными способами, представлены в предельно упрощенном виде в табл. 5-5. Помимо уже упомянутых трудностей интерпретации, следует учитывать, что каждый нейромедиатор взаимодействует по меньшей мере с двумя разными видами рецепторов. Более того, если эти регуляторные механизмы подобны большинству других, то они, вероятно, функционируют реципрокно, т. е. если клетка гипофиза находится под контролем как стимулирующего, так и ингибирующего гипоталамического гормона, то при секреции одного из них под влиянием вышележащей нервной сети тормозится выделение другого.

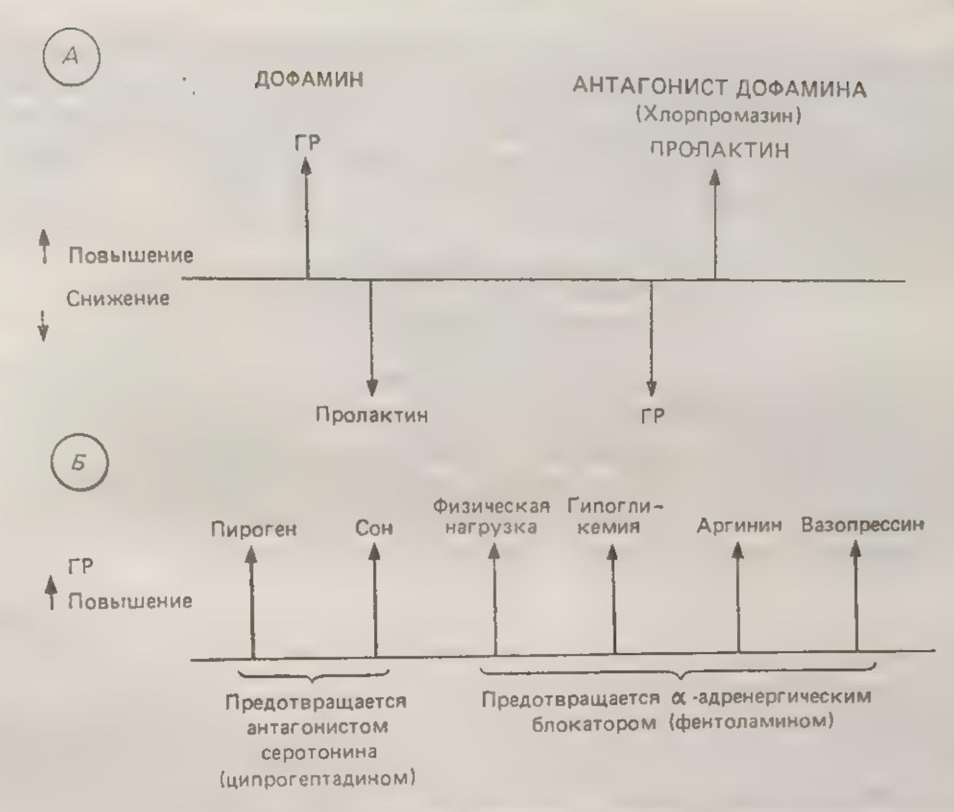


Рис. 5-5. *А* и *Б*. Регуляция секреции гормона роста (ГР) и пролактина моноаминами.

На рис. 5-5, *А* изображен путь накопления этой информации. Дофамин стимулирует секрецию ГР и тормозит секрецию ПРЛ, вероятно, за счет своего прямого действия на клетки гипофиза. Антагонист дофамина — хлорпромазин — обладает прямо противоположным действием.

На рис. 5-5, *Б* показано, что секреция каждого гормона может контролироваться *множественными* механизмами. Секрецию ГР усиливают разнообразные стимулы, которые первоначально воздействуют на пептидергические нейроны, продуцирующие ГР-РГ, причем нейроны могут относиться к разным нейрональным цепям. Эти стимулы могут опосредоваться разными нейромедиаторами. Так, стимуляция выброса ГР бактериальным пирогеном или глубоким сном блокируется антагонистами серотонина, а стимуляция этого выброса многими другими факторами снимается α-адреноблокаторами.

Этих немногих примеров достаточно, чтобы представить себе *возможные способы* дифференцированного контроля секреторной активности основных типов клеток передней доли гипофиза. В целом со своими шестью типами секреторных клеток, стимулируемых или ингибируемых, вероятно, дюжиной различных пептидов, которые вырабатываются в свою очередь пеп-

тидергическими нейронами под контролем по крайней мере шести нейромедиаторов и неизвестного числа пептидов-модуляторов (включая опиоиды), гипоталамо-гипофизарная релейная система является микроминиатюрным передатчиком информации поразительной гибкости.

Регуляция функции гипофиза по механизму обратной связи

Гормоны, секретируемые железами-мишенями тропных гормонов гипофиза (половые стероиды, тиреоидные гормоны, глюкокортикоиды надпочечников), участвуют в регуляции синтеза своих тропных гормонов по механизму обратной связи. Эта связь может замыкаться как в гипоталамусе, так и в гипофизе; каждая гормональная система обладает своеобразными типами обратных связей.

Секреция *ТТГ* вызывается трипептидом ТРГ и в свою очередь стимулирует секрецию тироксина (T_4) фолликулярными клетками щитовидной железы. Как отмечалось выше, T_4 и его метаболит — трииодтиронин (T_3) — придают гипофизарным тиреотрофам рефрактерность к стимулирующему эффекту ТРГ.

Сложная регуляция *ГнРГ* наблюдается у женщин. На одной стадии менструального цикла эстрогены стимулируют продукцию ГнРГ и повышают чувствительность к нему гонадотрофов. На другой стадии эстрогены и прогестерон ингибируют продукцию ГнРГ. Положительные и отрицательные эффекты обратной связи реализуются как в гипоталамусе, так и в гипофизе.

Синтез *ФСГ* контролируется множественными системами. Поскольку ГнРГ стимулирует секрецию как ЛГ, так и ФСГ и поскольку ЛГ и ФСГ не всегда секретируются одновременно и в одинаковых количествах, должна существовать какая-то дифференцированная регуляция выброса этих гонадотропинов. Согласно одной из гипотез, присутствующие в крови стероидные гормоны по-разному влияют на чувствительность ЛГ-трофов и ФСГ-трофов гипофиза, что и могло бы определять количественные различия в реакциях этих двух типов клеток на один и тот же стимул со стороны ГнРГ. (В гл. 9 обсуждается возможность дифференцированного влияния ГнРГ на секрецию ФСГ и ЛГ за счет изменений частоты импульсного выделения рилизинг-гормона.) Другая возможность связана с веществом, называемым *ингибином*, которое вначале было описано как продукт семявыносящих канальцев, а недавно обнаружено и в фолликулярной жидкости яичников (Channing). Это вещество избирательно тормозит продукцию ФСГ. Хотя конкретный участок приложения его ингибирующего действия пока неизвестен, ясно, что в отсутствие ингибина ФСГ продуцируется в

гораздо большем количестве, чем в его присутствии. Повышенная продукция ФСГ у женщин в постменопаузе и обусловлена, вероятно, прекращением секреции ингибина яичниками.

Секреция *ГР* (соматотропина) регулируется стимулами, исходящими из ЦНС. Введение ГР может тормозить эндогенную секрецию соматотропина, но такое ингибирование опосредуется соматомедином, который вырабатывается в организме при введении ГР (см. выше).

Секреция *ПРЛ*, подобно секреции ГР, вызывается афферентными нервными сигналами. Стимул, возникающий при сосании груди, составляет афферентную часть классического нейроэндокринного рефлекса. Эфферентная часть данного рефлекса имеет гуморальную природу: это выброс ПРЛ из гипофиза и его перенос кровью к молочным железам. Отсутствие повторных актов сосания формирует тормозной сигнал для системы, регулирующей секрецию ПРЛ. Секреция пролактина находится, по-видимому, под тоническим ингибиторным контролем. Это единственный гормон гипофиза, секреция которого при перерезке ножки гипофиза *возрастает*. Положительный стимул к секреции ПРЛ преодолевает торможение либо путем снижения секреции ПИФ (пролактин-ингибирующий фактор), либо за счет активации секреции ПРФ, а возможно, обоими способами. В настоящее время многие исследователи допускают, что ПИФ — это дофамин, поскольку введение дофамина непосредственно в воротную систему гипофиза может ингибировать секрецию ПРЛ (см. выше).

Секреция *АКТГ* тормозится кортизолом, который действует, вероятно, как на гипофизарном, так и на гипоталамическом уровнях.

Последние исследования механизмов отрицательной обратной связи на уровне гипоталамуса позволяют предположить, что пептидергические нейроны, секретирующие регуляторные пептиды, контролируются не только гормонами органов-мишеней (половыми стероидами, тиреоидными гормонами, гормонами коры надпочечников), но и тропными гормонами гипофиза, такими, как гонадотропины, АКТГ и ГР («короткая петля» обратной связи). Более того, активность пептидергических нейронов может ингибироваться и их собственными продуктами («сверхкороткая петля» обратной связи). Оценить биологическое значение этих типов обратной связи пока трудно. Известно, однако, что в гипофизотропной области гипоталамуса и вблизи нее имеются рецепторы стероидных гормонов и тироксина, а имплантация препарата стероидных гормонов в эту область дает результаты, подтверждающие представление о важной роли гормонов органов-мишеней в торможении по механизму обратной связи (рис. 5-6).

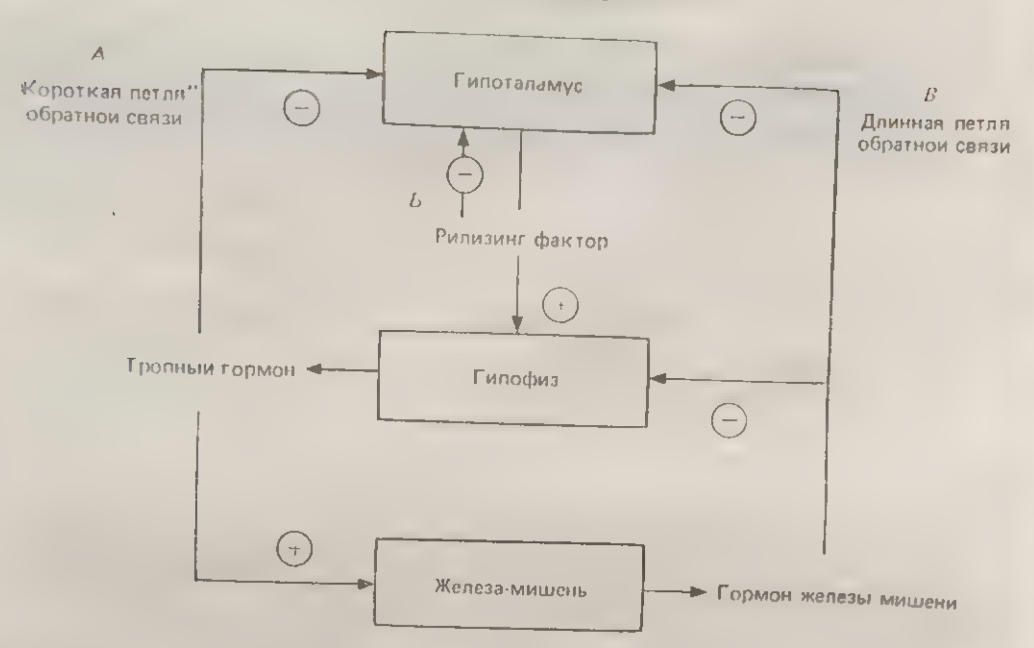


Рис. 5-6. *А* — «короткая петля», *Б* — «сверхкороткая петля», *В* — «длинная петля» механизма обратной связи.

Импульсный (эпизодический), суточный и циклический ритмы секреции гормонов гипофиза

Гормон роста, пролактин, АКТГ и гонадотропины обнаруживают связанные со сном всплески секреции. Максимальная концентрация ГР в крови регистрируется во время первых часов глубокого сна. За время сна выделяется более половины всего секретируемого за сутки количества ГР. Секреция ПРЛ также возрастает в первые часы глубокого сна, но его высокий уровень сохраняется дольше, чем уровень ГР. С другой стороны, содержание АКТГ начинает увеличиваться перед пробуждением и достигает пика в момент пробуждения.

Ночные всплески секреции гонадотропинов наблюдаются только в период полового созревания как у девочек, так и у мальчиков. До пубертатного периода уровень гонадотропинов весьма низок, а в зрелом состоянии дневной и ночной уровни разнятся незначительно. Циклическая секреция гонадотропинов рассматривается в гл. 9.

Увеличение частоты отбора проб крови позволило обнаружить недавно, что для всех изученных до сих пор гормонов гипофиза характерна *импульсная эпизодическая секреция.* Она состоит из регулярно повторяющихся секреторных всплесков, своего рода периодических разрядов. Суточные колебания включают множество периодических выбросов гормона. Каждый секреторный эпизод — это, по-видимому, реакция по типу «все или

ничего» на пороговый стимул, для формирования которого требуется строго определенное время. Феномен эпизодической секреции пока не получил удовлетворительного объяснения, но он, очевидно, отражает некое общее свойство гормон-секретирующих клеток гипофиза.

Импульсная, или эпизодическая, секреция гипофизарных гормонов расширяет наши представления о том, как химические медиаторы влияют на функцию чувствительных к ним клеток. Оказывается, что клеточные реакции на гормоны основаны не только на способности распознавать точную стереохимическую конфигурацию агониста, но и *зависят от времени,* в течение которого он действует. Если гормон *постоянно* присутствует в достаточно высокой концентрации (схематически———), то клетки могут приобретать рефрактерность, или нечувствительность, к стимулу. Отчасти это может быть результатом снижающей регуляции числа гормональных рецепторов, но, несомненно, включает и компоненты преобразования сигналов, которые перестают действовать еще до того, как реализуется снижающая регуляция. С другой стороны, импульсное, эпизодическое или ритмически прерываемое воздействие гормона (схематически....) может определять некий постоянный уровень секреторного ответа клетки. В этих двух случаях (и, вероятно, во всех других) *увеличение частоты импульсов* (схематически ....) приводит к *усилению* секреторного ответа клетки-мишени. Частота *импульсов* является интегральной частью информации, которую получает и расшифровывает клетка и на которую она реагирует.

Мысль о биологическом значении частоты секреторных импульсов, впервые высказанная Кнобилем и др. (Knobil et al.) на основании результатов исследования гонадотропной функции у обезьян, неожиданно оказалась весьма полезной для медицинской практики. (Уже упоминалось о лечении детей с дефицитом ГР импульсным введением ГР-РГ с помощью карманного микродозатора.) Что касается ГнРГ, то секреция гонадотропинов снижается или повышается в зависимости от того, вводится ли рилизинг-гормон непрерывно в высоких дозах или через насос, запрограммированный на имитацию секреторной активности нормального гипоталамуса. Непрерывное введение долгодействующего агониста ГнРГ практически полностью выключает секрецию гонадотропинов, тогда как импульсное его введение восстанавливает функциональные нарушения у мужчин и женщин с гипогонадизмом гипоталамического происхождения. Например, после введения ГнРГ с помощью насоса мужчина с гонадотропной недостаточностью, развившейся в результате травмы мозга, полученной в автомобильной катастрофе, стал отцом здорового ребенка (Hoffman, Crowley).

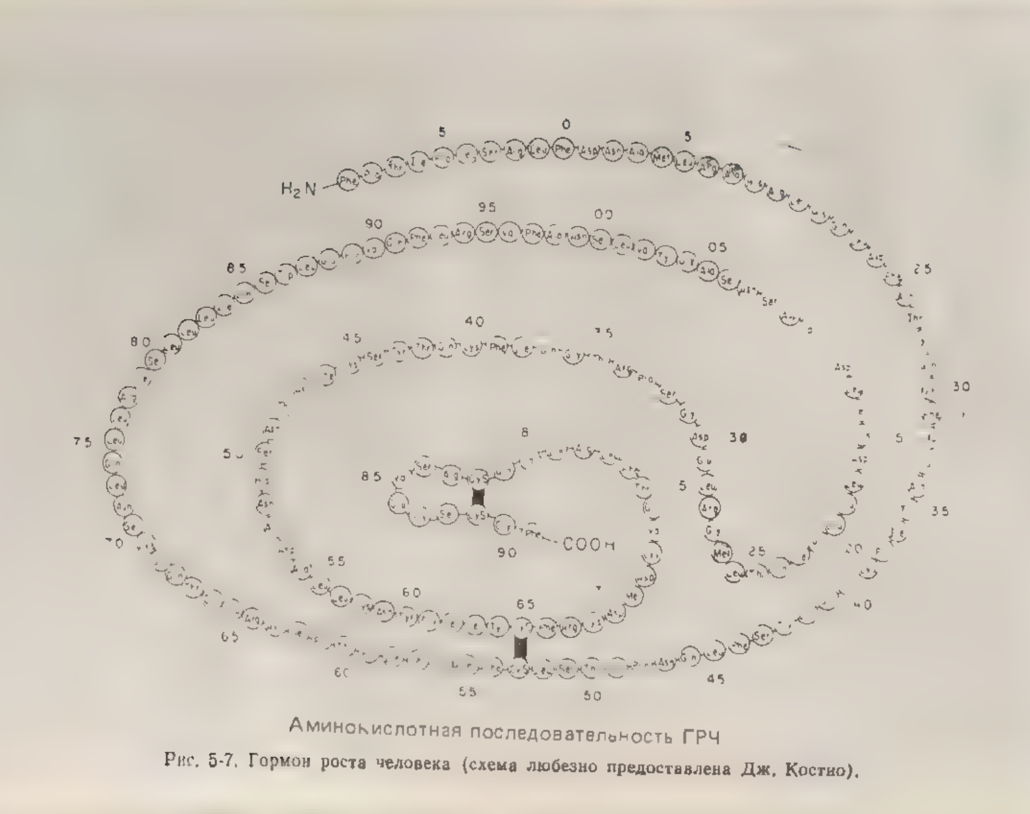


Рис. 5-7. Гормон роста человека (схема любезно предоставлена Дж. Костио).

Гормон роста

Гормон роста представляет собой одноцепочечный пептид, состоящий из 191 аминокислоты и имеющий два дисульфидных мостика (рис. 5-7). С ПРЛ и плацентарным лактогеном человека (ПЛЧ) гормон роста имеет 161 общую аминокислоту из 191. Бычий, свиной и овечий гормоны роста неэффективны при введении человеку и обезьянам; гормон, полученный из гипофизов человека, собранных при аутопсии, служит активным средством, стимулирующим рост у детей и человекообразных обезьян с дефицитом ГР.

Методы определения. ГР определяют по увеличению массы тела гипофизэктомированных крыс. Анализ тушек крыс, получавших ГР, показал, что увеличение массы под действием этого гормона обусловлено накоплением белка. Относительное содержание жира часто уменьшается.

Для биологического определения ГР традиционно используют метод измерения ширины эпифизарного хряща. У гипофизэктомированных животных хрящевой слой на концах длинных костей очень узкий. При введении ГР он расширяется, причем степень этого расширения зависит от введенной дозы гормона. Стимулирующее действие ГР на рост хряща способствовало открытию соматомедина (см. ниже).

ГР в крови. Современные исследования ГР связаны с *радиоиммунологическим методом,* который впервые предложили Берсон (Berson), Ялоу (Yalow), Глик (Glick) и Рот (Roth). С помощью этого метода удается обнаружить быстрые колебания уровня ГР в плазме при различных физиологических состояниях. Даже у нерастущих взрослых людей имеет место отчетливое повышение уровня ГР в следующих условиях:

1. Во время глубокого (медленноволнового) сна, на ранних его стадиях.
2. После воздействия пирогенов и в связи с травмой.
3. После мышечных упражнений.
4. При гипогликемии.
5. После введения аргинина.
6. После введения вазопрессина.
7. После введения морфина и других подобных средств.

Уровень ГР в плазме «в спокойном состоянии» не достигает и 3 нг/мл. При стимуляции он возрастает до 30—100 нг/мл. У женщин реакция ГР на провокационные стимулы выше, чем у мужчин, причем у последних реакция ГР на аргинин, например, усиливается после приема эстрогенов.

Подобно всем другим гипофизарным гормонам, ГР секретируется эпизодически каждые 20—30 мин. Широкие суточные

колебания определяются совокупностью многих эпизодических всплесков секреции.

Провокационные тесты на секреторный резерв ГР используют в клинике. Применяют и инсулиновую гипогликемию, и введение аргинина, и дозированную физическую нагрузку. С помощью этих тестов удается выявлять стертые формы недостаточности ГР, а также его неадекватную гиперреактивность. Последнее отмечается у больных с некомпенсированным диабетом, у которых физическая нагрузка приводит к аномально высокой и длительно сохраняющейся концентрации ГР в сыворотке, не снижаемой введением глюкозы. У здоровых людей, напротив, манипуляции, обычно повышающие секрецию ГР (физическая нагрузка, введение аргинина), не приводят к ожидаемым результатам на фоне длительной внутривенной инфузии глюкозы. Очевидно, «ощущение» гипергликемии глюкорецепторами мозга предотвращает секрецию ГР. Еще одним доказательством этого является возможность стимуляции секреции ГР у животных введением конкурентного ингибитора транспорта глюкозы 2-дезоксиглюкозы. Таким образом, ингибирование окисления глюкозы сенсорными клетками формирует стимул к секреции ГР. Глюкорецепторы, опосредующие этот эффект, могут локализоваться в гипоталамусе или других отделах ЦНС, связанных с гипоталамическими пептидергическими нейронами.

Механизмы действия ГР

Наиболее отчетливый эффект соматотропина — стимуляция роста хряща — связан с повышенным поглощением SO_4 и включением его в хондроитинсульфат, с усиленным поглощением аминокислот и включением их в белок и, наконец, с увеличением числа митозов и делением клеток. Современные гипотезы, касающиеся этих эффектов, рассматриваются ниже, в разд. «Соматомедины».

Метаболические эффекты ГР сложны и до сих пор плохо изучены. При кратковременном воздействии ГР обладает инсулиноподобным влиянием на мышцы, облегчая поглощение ими глюкозы. Однако в условиях длительного воздействия ГР развивается инсулинорезистентность, и поэтому он считается одним из физиологических антагонистов инсулина. В сочетании с глюкокортикоидами надпочечников ГР влияет на липолиз в жировых клетках. Хотя этот эффект был установлен давно, все еще нельзя описать его в понятиях молекулярной биологии. Можно сказать лишь, что он проявляется только по прошествии определенного лаг-периода, связан с усилением синтеза белка и сводится, вероятно, к повышению чувствительности адипоцитов к тоническим липолитическим стимулам. В любом

случае в организме животного он приводит к гидролизу триацилглицеролов, увеличению уровня свободных жирных кислот в крови, жировой инфильтрации печени и повышенному образованию кетоновых тел в печени. Возможно, что именно эти эффекты обусловливают наблюдающуюся в интактном организме инсулинорезистентность. Опыты с фрагментами гормона роста свидетельствуют о разной локализации метаболической и ростовой активности в пределах одной и той же молекулы.

Гормон роста необходим также для развития гипертрофии сохранившейся почки после удаления второй. В равной мере он участвует в механизмах гипертрофии других тканей. Пока неясно, зависят ли эти эффекты непосредственно от ГР или от вызываемых им изменений внутренней среды (соматомедин?).

Клеточный механизм действия ГР на хрящевую ткань связан с эффектами соматомедина. Хотя стимуляция роста и других тканей, таких, как печень и мышцы, тоже может опосредоваться аналогичным механизмом, in vitro легко показать и прямое действие ГР на мышцу (см. Kostyo et al.). Так, подобно инсулину, ГР вызывает независимое от синтеза белка усиление транспорта глюкозы. Спустя некоторое время после добавления ГР мышца приобретает резистентность к действию инсулина, и в этот период усиливается транспорт аминокислот, зависящий от синтеза нового белка. Костио и др. (Kostyo et al.) считают, что стадия стимуляции роста связана со *снижением* концентрации свободного цАМФ в мышечной клетке. Это согласуется со многими другими наблюдениями, свидетельствующими о том, что стимуляция роста сопряжена со снижением концентрации цАМФ.

Действие ГР на печень до сих пор недостаточно изучено. Гормон стимулирует синтез белка по прошествии лаг-периода, синтез РНК и образование полисом, а также в конце концов синтез ДНК, как об этом свидетельствует увеличение полиплоидности гепатоцитов. В препаратах очищенных плазматических мембран клеток печени легко обнаружить специфические, насыщаемые рецепторы ГР. Однако каким образом связывание гормона приводит к стимуляции синтеза белка и делению клеток — пока неясно. Гормон роста взаимодействует с рецепторами, локализованными на плазматической мембране, но его эффекты в целом сходны с таковыми стероидных гормонов.

Наиболее важный нерешенный вопрос, касающийся ГР, сводится к тому, какие из его многочисленных эффектов связаны со стимуляцией продукции соматомединов и какие — с действием самой молекулы ГР или какого-то ее активного фрагмента. В присутствии ГР костная органная культура увеличивает продукцию соматомедина С (Stracke et al.). Ван ден Брэнд (Van den Brande) и Ван Бюл-Офферс (Van Buul-Offers) воспроиз-

вели явные ростовые эффекты, включая увеличение длины и массы тела, вводя соматомедин человека карликовым мышам с недостаточностью ГР (см. Wallis).

Гормон роста и технология рекомбинантных ДНК

Ген гормона роста человека, подобно генам соматостатина и инсулина, встроили в плазмиды и добились продукции гормона клетками *E. coli*. Полученный таким образом гормон прошел успешную проверку на детях с недостаточностью ГР, и вскоре можно ожидать его наработки для нужд здравоохранения.

Другим историческим событием в области технологии рекомбинантных ДНК явилась работа Пальмитера и др. по конструированию составного гена, включающего промоторный участок мышиного гена (активируемый кадмием и цинком), и структурного гена ГР человека (см. Palmiter et al.). После того как данный ген *путем микроинъекции был введен в оплодотворенные яйцеклетки* мыши, у 70% животных, включивших его в свой геном, обнаружились повышенные уровни ГР в сыворотке и гораздо больший рост, чем в контроле. Рост некоторых из них вдвое превышал нормальный. Еще большие количества ГР определяли при введении подопытным мышам кадмия или цинка, которые в норме «включают» промоторный участок составного гена. Чрезвычайно высокий уровень ГР в сыворотке сопровождался повышением содержания в ней соматомедина (см. следующий раздел). Эти составные гены по-разному экспрессировались во всех тканях, и каждая из них могла синтезировать и секретировать избыточные количества ГР. Гистологическое исследование гипофиза таких животных обнаружило атрофию клеток, в норме продуцирующих ГР.

Соматомедины и другие ростовые факторы

Изучение механизма действия ГР на уровень инсулина в крови и рост клеточных культур привело к открытию семейства циркулирующих пептидов, имеющих некоторые общие свойства: 1) их концентрация в сыворотке зависит от ГР; 2) в тканях (кроме костей) они проявляют инсулиноподобную активность (т. е. стимулируют утилизацию глюкозы) и 3) in vitro стимулируют рост хряща. Эти вещества необходимо изучать по крайней мере для оценки причин нарушения роста у детей. Возможно, они играют и центральную роль в процессе заживления ран, компенсаторной гипертрофии после удаления одного из парных органов, регенерации тканей, старения и неоплазии.

В 1957 г. Салмон и Дафдей (Salmon, Daughday), пытаясь улучшить существующие биологические методы определения ГР, показали, что очищенный ГР не стимулирует включение $^{35}SO_4$ в хондроитинсульфат хрящевой ткани in vitro. Если сыворотка гипофизэктомированных крыс, не получавших ГР, также оказывалась неэффективной, то сыворотка крыс, получавших ГР, была столь же эффективной, что и сыворотка контрольных животных. Эти опыты явились основой для постулирования существования ГР-зависимого «сульфирующего фактора», который позднее получил название *соматомедина,* поскольку считалось, что он опосредует действие ГР на хрящ.

Тем временем велись параллельные исследования инсулиноподобной активности плазмы, которая не нейтрализовалась антителами к инсулину. Эта активность, известная как НИПА (неподавляемая инсулиноподобная активность), принадлежит двум веществам пептидной природы, получившим название инсулиноподобных факторов роста (ИФР) I и II. В дальнейшем оказалось, что ИФР разделяют описанные выше свойства семейства соматомедина.

Исследования других авторов, интересовавшихся в основном «активностью, стимулирующей размножение клеток», присутствующей в различных компонентах ростовых сред для культур эукариотических клеток, привели к выделению и характеристике ряда митогенных веществ, среди которых по крайней мере одно, а именно MSA (от англ. multiplication stimulating activity), открытое Теминым (Temin), имело все признаки соматомедина. Соматомедин С и ИФР-I идентичны, равно как и MSA и ИФР-II.

Поскольку соматомедины не накапливаются в какой-либо ткани, для их выделения (в ничтожных количествах) были использованы очень большие объемы плазмы крови с просроченным временем хранения. В крови присутствует не менее трех различных соматомединов, но наиболее подробно (с применением радиоиммунологического и радиорецепторного анализа на препаратах плазматических мембран плаценты человека) изучен соматостатин С — пептид, состоящий из 63 аминокислот.

Местом его синтеза считают печень, хотя стимуляция выработки соматомедина изолированной перфузируемой печенью требует чрезмерно высоких концентраций ГР. Частичная гепатэктомия приводит к 75%-ному падению уровня соматомедина в плазме, а в крови печеночной вены его концентрации оказываются выше, чем в периферической.

Период полураспада введенного меченого соматомедина составляет 2—4 ч, что гораздо больше, чем для других пептидных гормонов, период полураспада которых всего 20—30 мин. Причина столь длительной задержки соматомедина в крови за-

ключается в том, что он циркулирует в связанной с сывороточными белками форме, причем участки связывания специфичны и насыщаемы. У гипофизэктомированных животных период полураспада соматомедина падает до 8 мин, и это позволило ряду исследователей предположить, что ГР регулирует в основном не синтез соматомедина, а синтез его белков-переносчиков.

Концентрация соматомедина С изменяется с возрастом. В крови пуповины (у новорожденных) она составляет около 0,3 ед./мл, а у детей двухлетнего возраста — 0,4—0,5 ед./мл. У взрослых его уровень достигает 1—2 ед./мл. Эти цифры свидетельствуют о том, что в период наиболее интенсивного роста либо повышена чувствительность тканей к соматомедину, либо ускорен его кругооборот. Ван Вик и др. (Van Wyck et al.) обнаружили тесную положительную корреляцию между уровнем соматомедина С в сыворотке и скоростью роста у 31 ребенка с гипопитуитаризмом, получавшего в течение длительного времени ГР человека.

К *биологическим эффектам* соматомединов в хрящевой ткани относятся следующие:

1) стимуляция включения $^{35}SO_4$ в протеогликаны;
2) стимуляция включения тимидина в ДНК;
3) стимуляция синтеза РНК;
4) стимуляция синтеза белка.

Предполагается, что эти эффекты опосредуются стимуляцией транспорта аминокислот, но остается неясным, как это может затронуть синтез ДНК и митотическую активность. Хотя одним из звеньев реакции считают снижение уровня цАМФ, данные по этому вопросу неубедительны.

Соматомедин С проявляет митогенную активность не только в хрящевых клетках — он стимулирует митозы и в культурах клеток множества других типов. Этим он напоминает пептидные ростовые факторы: фактор роста фибробластов (ФРФ), фактор роста из тромбоцитов (ФРТ), эпидермальный фактор роста (ЭФР), фактор роста нервов (ФРН), эритропоэтин и тимозин. Большинство из них обладает определенной инсулиноподобной активностью, а некоторые, как ФРН, имеют с инсулином общие аминокислотные последовательности.

Опыты с перекрестным связыванием рецепторами соматомедина С и инсулина показали, что эти два вещества имеют свои собственные рецепторы и что каждое из них в незначительной степени ингибирует специфическое рецепторное связывание другого. Так, инсулин в 1000 раз слабее, чем соматомедин С, препятствует связыванию последнего, а соматомедин в 50 раз менее активно, чем инсулин, тормозит связывание меченого инсулина.

Эти данные уже *используются в клинике* и, несомненно, найдут дальнейшее применение. Содержание соматомедина С в плазме крови больных акромегалией в 2—4 раза превышает его уровень у здоровых взрослых людей, тогда как у детей с нелеченым гипопитуитаризмом его концентрация не достигает и 0,1 ед./мл. Лечение гипопитуитаризма гормоном роста уже через 1—3 дня нормализует уровень соматомедина С.

При белково-калорическом голодании (квашиоркор) уровни ГР в плазме повышены, а содержание соматомедина, определяемое всеми тремя методами, снижено. Подобно этому, у людей с мутацией, приводящей к карликовости Ларона, высокие уровни ГР в плазме наблюдаются на фоне низкого содержания соматомедина. У таких больных лечение ГР не стимулирует рост и не повышает уровень соматомедина. Эти наблюдения, как и данные по белково-калорической недостаточности, согласуются с представлением о роли соматомедина в торможении секреции ГР по механизму обратной связи.

Вопрос о том, вся ли ростовая активность ГР опосредуется соматомединами, остается открытым. Ясно лишь, что ГР непосредственно влияет на транспорт аминокислот и липолиз, т. е. данные эффекты не требуют продукции соматомединов.

Пептиды семейства кортикотропина

β-Липотропин, энкефалины и эндорфины

Сам кортикотропин (АКТГ) рассматривается в гл. 11. Недавнее открытие молекулы проАКТГ и ее структурное сходство с другими соединениями, представляющими биологический интерес, оправдывает краткий анализ этого вопроса.

Обнаружение в мозге участков специфического связывания морфина и структурно близких соединений указало на возможность выработки в организме «эндогенных опиатов». После интенсивных поисков Хаджес и др. (Hughes et al., 1975) описали аминокислотные последовательности двух пентапептидов — метионин-энкефалина и лейцин-энкефалина:

Tyr-gly-gly-phe-MET и Tyr-gly-gly-phe-LEU.

Эти пептиды связываются с рецепторами морфина и обладают у животных морфиноподобной активностью. Более того, их биологическому действию, как и действию морфина, препятствуют налоксон и другие антиморфинные препараты (см. гл. 3).

В 1976 г. Гольдстейн (Goldstein) сообщил, что опиоидная активность экстрактов гипофиза принадлежит более крупной, чем пентапептид, молекуле. Аминокислотная последовательность метионин-энкефалина аналогична таковой (аминокислоты

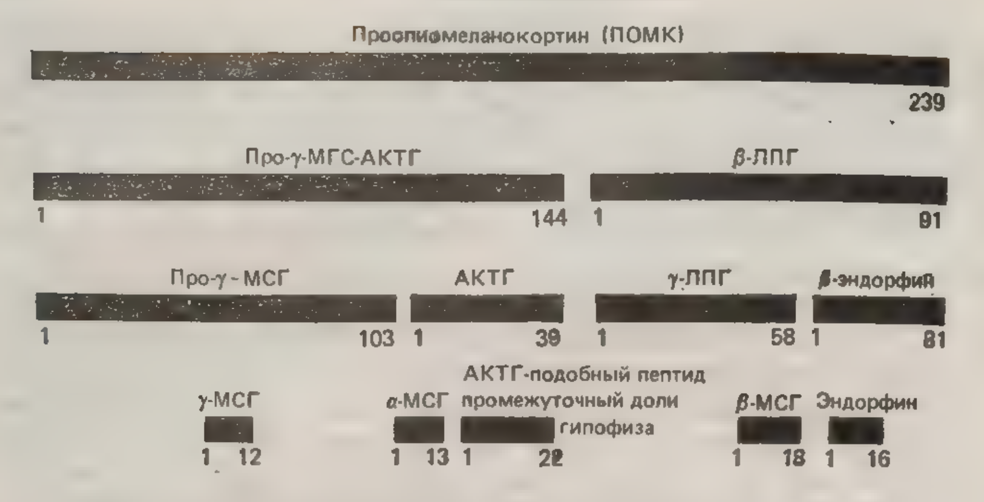


Рис. 5-8. Пептиды, полученные из проопиомеланокортина (ПОМК).

61—65) в гипофизарном продукте, известном как β-липотропин (β-ЛПГ), структура которого была расшифрована Ли (С. H. Li). Интерес исследователей к β-ЛПГ, вначале считавшемуся жиромобилизующим гормоном, был не слишком велик, но работы в области «эндогенных опиатов» побудили Ли, Гийемена и др. вернуться к анализу строения этой молекулы и изучению ее взаимосвязей с другими биологически активными веществами.

Результаты этих исследований представлены на рис. 5-8. Особые базофилы гипофиза, ранее известные как источники АКТГ, синтезируют крупный гликопротеин (мол. масса 31 000). Этот прогормон служит предшественником *как* АКТГ (39 аминокислот), *так* и β-ЛПГ (91 аминокислота), которые в свою очередь могут являться предшественниками других веществ, выполняющих важные биологические функции. Однако АКТГ, β-ЛПГ и эндорфины (образующиеся, вероятно, при протеолизе β-ЛПГ) обнаруживаются не только в гипофизе, но и в мозге. Энкефалины, присутствующие в мозге, в гипофизе не обнаружены. Сохранение пептидов в мозговой ткани после гипофизэктомии свидетельствует об их синтезе в мозге. Связь между гипофизарными и мозговыми пептидами сходной структуры пока неясна.

Открытие морфиноподобных пептидов явилось крупнейшим достижением нейробиологии. Энкефалины и α-эндорфин в пересчете на моль оказывают такое же аналгезирующее действие, как и морфин, тогда как β-эндорфин в 15 раз эффективнее морфина. Поскольку эти соединения не проходят через гематоэнцефалический барьер, их действие у животных наблюдается при введении прямо в ЦНС. Они не только являются аналгетиками, как морфин, но воспроизводят и его поведенческие эффекты, к которым относятся ригидность мышц и отсутствие

спонтанных движений. Все это быстро исчезает при введении антагониста морфина — налоксона.

Открытие данных соединений легло в основу новой теории механизма восприятия боли, согласно которой «отсутствие боли» определяется равновесием между болевыми сигналами и тоническими «антиболевыми» сигналами, которые возникают при участии опиатных пептидов. Интересно, например, что обезболивающий эффект иглоукалывания удается заблокировать налоксоном. Это указывает на возможность эндогенного высвобождения эндорфинов или энкефалинов при данной процедуре.

Не исключено, что эндорфины и энкефалины модулируют секрецию гормонов гипофиза. После установления стимулирующего действия морфина на секрецию гормона роста, пролактина и АКТГ были обнаружены аналогичные эффекты и морфиноподобных пептидов. Поскольку эти вещества при непосредственном воздействии на гипофиз не всегда вызывают подобные изменения, их влияние, вероятно, опосредуется пептидергическими нейронами гипоталамуса. Неизвестно, являются ли они нейромедиаторами или модуляторами передачи в аксо-аксональных синапсах.

Концентрация эндорфинов и энкефалинов в крови после стимулируемой выработки АКТГ чрезвычайно низка, но эти пептиды вполне поддаются иммуногистохимическому определению в мозге, желудочно-кишечном тракте, панкреатических островках и других тканях. Оба МСГ являются важными продуктами промежуточной доли гипофиза. Почему клетки разных типов продуцируют различные производные ПОМК в разном *соотношении,* неизвестно. Нума и др. (Numa et al., см. Imura) клонировали ген препро-ПОМК, все части которого располагались в линейном порядке, и должны были бы поэтому транскрибироваться с образованием единой препро-мРНК. Вполне вероятно, что различия между клетками определяются различным процессингом либо препро-мРНК, либо продуктом ее трансляции (см. ниже, МСГ).

Меланоцитстимулирующий гормон (МСГ)

В 1916 г. Смит и Аллен (Smith, Allen) наблюдали обесцвечивание кожи головастиков после гипофизэктомии. Спустя три года Атвелл (Atwell), помещая головастиков в раствор неочищенного экстракта гипофиза, обнаружил потемнение их кожи. В 1938 г. Цондек (Zondek) нашел, что потемнение кожи амфибий вызывают экстракты промежуточной доли гипофиза. Предполагаемое действующее начало экстракта он назвал *интермедином,* но оно гораздо шире известно как *меланоцитстимулирующий гормон,* или МСГ. У некоторых видов млекопитающих

(крыса, кролик, овца, крупный рогатый скот и др.) промежуточная доля является четко различимой структурой, расположенной между передней и задней долями гипофиза и содержащей большие количества α-МСГ и кортикотропин-подобного пептида (КПП). Однако известно, что у взрослого человека и других млекопитающих она практически отсутствует; лишь в переднем сегменте задней доли удается обнаружить небольшое число редко расположенных клеток, продуцирующих МСГ. Общее содержание α-МСГ и КПП в железе незначительно. На одной из стадий развития плод человека имеет столь же выраженную промежуточную долю, что и крысы, кролики и т. д., и в это время в ней содержатся большие количества α-МСГ и КПП. Отсутствие этих продуктов в гипофизе взрослых людей свидетельствует о том, что в МСГ- и АКТГ-продуцирующих клетках, содержащих ген ПОМК, существуют свои собственные пути процессинга этого пептида. Гипофиз лишен фермента, необходимого для расщепления АКТГ с образованием α-МСГ. Таким образом, клетки каждого типа регулируют судьбу синтезированного ПОМК, приводя этот крупный белок-предшественник в контакт со своими собственными протеолитическими ферментами.

Химическая структура

Известны пять соединений, обладающих активностью МСГ: 1) α-МСГ, 2) β-МСГ, 3) γ-МСГ, 4) АКТГ, 5) β-ЛПГ. Все они являются производными общего предшественника — ПОМК. Их строение схематически показано на рис. 5-8. Активность МСГ определяется следующим гептапептидом, содержащимся во всех перечисленных выше соединениях:

Met-Glu(Gly)-His-Phe-Arg-Trp-Gly.

У животных, имеющих четкую промежуточную долю гипофиза, основным носителем этой активности является сам МСГ. Как уже отмечалось, у человека в постнатальный период жизни в гипофизе он практически отсутствует и не определяется в жидких циркулирующих средах организма. В настоящее время считают, что β-МСГ представляет собой артефактный продукт разрушения β-ЛПГ. Хотя в качестве фактора, вызывающего потемнение кожи, МСГ примерно в 30 раз активнее АКТГ, при некоторых условиях секретируются достаточные количества АКТГ и β-ЛПГ, чтобы вызвать у человека гиперпигментацию (см. ниже). Имеет ли физиологическое значение γ-МСГ — неизвестно.

ПОМК — это гликопротеин, и роль углеводной части, присоединенной к молекуле вблизи ее N-конца, вызывает определен-

ный интерес. Ло (Loh) исследовал судьбу ПОМК в условиях блокады гликозилирования вновь синтезированного белка туникамицином. Было показано, что углеводная часть препятствует быстрому разрушению белковой молекулы, которое имеет место при синтезе безуглеводного белка.

Методы определения

На одной из стадий эволюции МСГ принимает участие в адаптивных реакциях, обеспечивая невидимость в темноте или слияние испуганной особи с темным фоном. Основной биологический метод определения МСГ, с помощью которого можно обнаружить этот гормон с точностью до 20—50 пг, основан на регистрации потемнения кожи амфибий в стандартных условиях. Меланоциты кожи амфибий содержат множество мелких гранул пигмента, называемых меланосомами. Цвет кожи определяется их внутриклеточным распределением; когда они собираются в плотную гроздь у ядра, кожа выглядит светлой, а когда они рассеиваются по всей клетке — темной. МСГ вызывает дисперсию меланосом, тогда как катехоламины и мелатонин (см. гл. 7) осветляют кожу, приводя к концентрированию меланосом в одном участке клетки.

Для определения уровня МСГ в жидких средах и тканях организма помимо биологического широко используют и радиоиммунологический метод. Для выяснения локализации МСГ-содержащих клеток в гипофизе и ЦНС применяется иммунофлуоресцентная микроскопия.

Регуляция секреции

Большинство исследований по регуляции секреции МСГ выполнено на животных тех видов, у которых имеется развитая промежуточная доля гипофиза, и поэтому полученные результаты нельзя переносить на человека. У крыс секреция МСГ находится под тоническим тормозным контролем, осуществляемым, вероятно, α-адренергическими нейронами, равно как и ингибиторным веществом — МИФ. Кандидатом на роль МИФ является трипептидная боковая цепь окситоцина (рис. 5-9). Полагают,

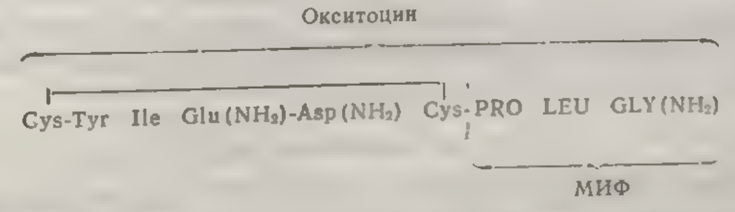


Рис. 5-9. Аминокислотные последовательности меланоцит-ингибирующего фактора (МИФ) и окситоцина.

что кольцевая структура окситоцина содержит меланоцитстимулирующий фактор — МСФ. У крыс множество сенсорных стимулов приводят к секреции МСГ (звук, прикосновение, грудное вскармливание, травма), но нервные пути передачи этих стимулов неизвестны.

Пигментные клетки у млекопитающих

Кожа млекопитающих не темнеет сразу после введения МСГ. Однако пигментация клеток млекопитающих в культуре при инкубации с МСГ около 16 ч увеличивается. Это всецело определяется повышением синтеза меланина в специализированных пигментных клетках — меланоцитах. Пигмент меланин представляет собой сложное вещество, содержащее белок и полимер индол-5,6-хинона. Он образуется следующим образом:

Тирозин
↓ *Тирозиназа*
Дофа
↓
Дофа-хинон
↓
Меланин

МСГ усиливает образование меланина, индуцируя синтез тирозиназы — фермента, ограничивающего скорость всего процесса. Этот эффект, опосредуемый транскрипцией, наблюдается в культуре как нормальных клеток кожи, так и клеток меланомы.

Гиперпигментация у человека может иметь место при 1) *первичной недостаточности коры надпочечников* (болезнь Аддисона), 2) *вторичной гиперактивности надпочечников* (болезнь Кушинга) и 3) эктопических АКТГ-продуцирующих опухолях. Гипофиз, плацента и опухолевые клетки секретируют АКТГ, β-ЛПГ и про-γ-МСГ вместе, и при всех перечисленных заболеваниях эти гормоны продуцируются в избыточном количестве. При первичной недостаточности коры надпочечников это обусловлено отсутствием торможения их секреции по механизму обратной связи, а в двух остальных случаях — непрерывной неингибируемой секрецией продуктов ПОМК.

При беременности наблюдается потемнение всех ранее пигментированных участков: кожи вокруг сосков, вульвы и слизистых оболочек. Это может быть следствием секреции плацентой больших количеств продуктов ПОМК, равно как и прямого влияния эстрогенов на синтез меланина.

Прочие эффекты МСГ

Поскольку как у покрытых шерстью, так и у бесшерстных млекопитающих МСГ наверняка не является средством маскировки, можно ли думать, что этот очень консервативный пептид,

подобно множеству других соединений, в ходе эволюции приобрел иные функции? МСГ приписывают ряд важных эффектов, не связанных с пигментацией.

Одна из наиболее интересных гипотез исходит из того, что покрытые шерстью млекопитающие (крысы, кролики, быки и т. д.) имеют хорошо выраженную промежуточную долю гипофиза, тогда как у безволосых (человек, кит, броненосец) она отсутствует. Если добавить к этому, что МСГ стимулирует активность сальных желез (которые развиваются вместе с волосами), а также продукцию феромонов (функция видоизмененных сальных желез), то можно по крайней мере предположить, что эти функции пептида крайне важны для тех видов, половое поведение которых в значительной степени связано с обонянием.

Наличие выраженной промежуточной доли у плода человека наряду с тем фактом, что N-концевой пептид про-γ-МСГ стимулирует секрецию глюкокортикоидов и альдостерона надпочечниками, позволило ряду авторов считать, что этот гормон у плода обладает стероидогенным действием на надпочечники. Некоторые исследователи отводят МСГ важную роль в общем росте и развитии плода.

Наконец, пептид МСГ 4—10 (равно как и АКТГ 4—10) занял выдающееся место в хорошо известных исследованиях Де Уида по влиянию различных пептидов на память (см. De Wied). МСГ обнаруживается в различных участках мозга крысы и человека. У крыс наибольшая его концентрация отмечена в аркуатном ядре, которое проецируется на передний гипоталамус, в преоптическом ядре и миндалине. Именно аркуатное ядро может служить основным источником МСГ в мозге, поскольку его разрушение (либо электролитически, либо путем введения новорожденным животным однозамещенного глутамата натрия) сопровождается резким падением содержания МСГ в других отделах мозга. Трудно сказать, какое отношение имеют (и имеют ли) такие наблюдения к постулируемой роли МСГ в хранении и использовании ранее усвоенной информации, но может оказаться, что этот пептид играет в ЦНС столь же полезную адаптивную роль, что и в коже земноводных.

Клеточный механизм действия

Меланоциты и клетки меланомы содержат рецепторы МСГ. Все вышеописанные процессы в коже лягушки, как и индукция тирозиназы в коже млекопитающих, связаны с повышением внутриклеточного уровня цАМФ. В дисперсии меланосом принимают участие микротрубочки и микрофиламенты. Поэтому в действии гормона важная роль должна принадлежать ионам Ca^{2+}.

Пептидергические нейроны в ЦНС

Разработка эффективных иммуноцитологических методов открыла новую область контактов между эндокринологами и нейробиологами. Вещества, которые вначале были идентифицированы как гипоталамические рилизинг- или ингибирующие гормоны, внезапно начали обнаруживаться в неожиданных местах. Например, оказалось, что *ТРГ* и *соматостатин* широко распространены в головном и спинном мозге (в мозжечке соматостатин отсутствует). Опиатные пептиды — *эндорфины* и *энкефалины* — тоже широко представлены в мозге и гипофизе; поскольку в мозге они сохраняются и после гипофизэктомии, по-видимому, они здесь и синтезируются. В клетках ЦНС в настоящее время выявлены и другие пептиды, которые издавна связывали с желудочно-кишечным трактом и другими тканями вне ЦНС. К ним относятся гастрин, вещество Р и холецистокинин; последний, как полагают, участвует в регуляции потребления пищи. Подобно этому, в мозге теперь обнаружены *ренин* и *ангиотензин* II, играющие ключевую роль в ренин-ангиотензин-альдостероновой системе, связанной с гомеостазом жидкости и электролитов; было показано, что ангиотензин II в значительной мере определяет питьевое поведение, а не только участвует в регуляции артериального давления и секреции АДГ. Вряд ли ангиотензин II поступает в мозг извне и концентрируется здесь, поскольку в мозге обнаружены все необходимые ферменты для его синтеза.

На основании эмбриологических данных Пирс (Pearse) предположил, что все клетки, вырабатывающие сходные пептиды, будь то в желудочно-кишечном тракте или в мозге, происходят из одной и той же группы нейроэктодермальных клеток. Систему таких клеток он назвал APUD-системой (по первым буквам слов **a**mine **p**recursor **u**ptake **d**ecarboxylase), т. е. захват и декарбоксилирование предшественников аминов). Согласно его точке зрения, эндокринная и нервная системы представляют собой подтипы более крупной общности. Эта гипотеза не лишена интереса, но еще слишком мало известно о возможных функциях различных пептидергических нейронов в ЦНС — кроме, вероятно, тех, которые продуцируют холецистокинин и ангиотензин II. Являются ли эти вещества нейромедиаторами или аксо-аксональными модуляторами моноаминергических нервных окончаний? В любом случае удивительный факт присутствия в нейронах ЦНС опиатных пептидов и, более того, гормонов желудочно-кишечного тракта открывает новую эру в нейробиологии и устанавливает новую связь между исследователями в области нервной и эндокринной регуляции (см. Krieger).

Литература[1]

Baylin S. B., Mendelsohn G. (1980). Ectopic (inappropriate) hormone production by tumors: Mechanisms involved and the biological and clinical implications, Endocr. Rev., **1, 45.**

Bloom F., Segal D., Ling N. et al. (1976). Endorphins: Profound behavioral effects in rats suggesting new etiological factors in mental illness, Science, **194, 630.**

Carpenter G., Cohen S. (1978). Epidermal growth factors. In: Litwack G. (ed.). Biochemical Actions of Hormones, vol. 5, New York, Academic Press, pp. 203—245.

Chrousos G. P. (1985). (Moderator). Clinical applications of corticotropin-releasing factor (NIH conference), Ann. Intern. Med., **102,** 344.

Collu R., Barbeau A., Ducharme J. R. et al. (eds.) (1979). Central Nervous System Effects of Hypothalamic Hormones and Other Peptides, New York, Raven Press.

Conn P. M. (1984). Molecular mechanism of gonadotropin releasing hormone action. In: Litwack G. (ed.). Biochemical Actions of Hormones, vol. 11, New York, Academic Press, pp. 68—92.

Daughaday W. (1985). Prolactin and growth hormone in health and disease. In: Ingbar S. H. (ed.). Contemporary Endocrinology, vol. 2, New York, Plenum Publishing Corp., pp. 27—86.

DeWied D. (1974). Hormones and behavior. In: Schmidt F. W., Worden F. G. (eds.). The Neurosciences Third Study Program, Cambridge, Massachusetts, MIT Press, pp. 653—666.

Eipper B. A., Mains R. E. (1980). Structure and biosynthesis of proadrenocorticotropin/endorphin and related peptides. Endocr. Rev., **1, 1.**

Guillemin R. (1977). Endorphins, brain peptides that act like opiates, N. Engl. J. Med., **296.**

Guillemin R., Brazeau P., Bohlen P. et al. (1984). Somatocrinin, the growth hormone releasing factor, Recent. Prog. Horm. Res., **40,** 233.

Harwood J. P., Grewe C., Aguilera G. (1984). Actions of growth-hormone-releasing factor and somatostatin on adenylate cyclase and growth hormone release in rat anterior pituitary, Mol. Cell Endocrinol., **37,** 277.

Hayward J. N. (1977). Functional and morphological aspects of hypothalamic neurones. Physiol. Rev., **57, 574.**

Hoffman A. R., Crowley W. F. (1982). Induction of puberty in men by long-term pulsatile administration of low-dose gonadotropin-releasing hormone, N. Engl. J. Med., **307,** 1237.

Hughes J., Smith T. W., Kosterlitz H. W. et al. (1975). Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. Nature, **258, 577.**

Imura H. (ed.) (1985). The Pituitary Gland, New York, Raven Press.

Itakura K., Hirose T., Crea R. et al. (1977). Expression in *Escherichia coli* of a chemically synthesized gene for the hormone somatostatin, Science, **198,** 1056.

Jeffcoate S. L., Hutchinson J. S. M. (eds.) (1979). The Endocrine Hypothalamus, New York, Academic Press.

Krieger D. T. (1981). Neuroendocrine physiology. In: Felig P., Baxter J. D. et al. (eds.). Endocrinology and Metabolism, New York, McGraw-Hill Book Co, pp. 125—149.

Krieger D. T. (1984). Brain peptides, Vitam Horm., **41,** 1.

Krieger D. T. (1985). Neuroendocrinology. In: Ingbar S. H. (ed.). Contemporary Endocrinology, vol. 2. New York, Plenum Publishing Corp., pp. 1—26.

---

[1] См. примечание на с. 40

Labrie F., Belanger A., Dupont A. (eds.) (1984). LHRH and Its Analogues, Amsterdam, Excerpta Medica.
McCann S. M. (1982). Physiology and pharmacology of LHRH and somatostatin, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 22, 491.
Nicolics K., Mason A. J. et al. (1985). A prolactin-inhibiting factor within the precursor for human gonadotropin-releasing hormone, Nature, 316, 511.
Palmiter R. D., Norstedt G., Gelinas R. E. et al. (1983). Metallothionein-human growth hormone fusion genes stimulate growth of mice, Science, 222, 809.
Pearse A. G. E. (1976). Peptides in brain and intestine, Nature, 262, 92.
Phillips L. S., Vassilopoulou-Sellin R. (1980). Somatomedins (two parts), N. Engl. J. Med., 302, 371.
Reichlin S. (1981). Neuroendocrinology. In: Williams R. H. (ed.). Textbook of Endocrinology, ed 6, Philadelphia, W. B. Saunders Co, pp. 589—645.
Reichlin S. (1983). Somatostatin (two parts), N. Engl. J. Med., 309, 1495.
Rivier J., Spiess J., Thorner M. et al. (1982). Characterization of a growth hormone-releasing factor from a human pancreatic islet cell tumor, Nature, 300, 276.
Schally A. V., Coy D. H., Meyers C. A. (1978). Hypothalamic regulatory hormones, Ann. Rev. Biochem., 47, 89.
Schulte H. M., Chrousos G. P., Oldfield E. H. et al. (1985). Ovine corticotropin-releasing factor administration in normal men, Horm. Res., 21, 69.
Sheldon W. R. Jr., de Bold C. R., Evans W. S. et al. (1985). Rapid sequential intravenous administration of four hypothalamic releasing hormones as a combined anterior pituitary function test, J. Clin. Endocrinol. Metab., 60, 623.
Stracke H., Schulz A., Moeller D. et al. (1984). Effect of growth hormone on osteoblasts and demonstration of somatomedin C/IGF I in bone organ culture, Acta Endocrinol., 107, 16.
Streeten D. H. P., Anderson G. H. J., Dalakos T. G. et al. (1984). Normal and abnormal function of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system in man, Endocr. Rev., 5, 371.
Tery L. C., Martin J. B. (1978). Hypothalamic hormones: Subcellular distribution and mechanisms of release, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 18, 111.
Thorner M. O., Reschke J., Chitwood J. et al. (1985). Acceleration of growth in two children treated with human growth hormone-releasing factor, N. Eng. J. Med., 312, 4.
Unger R. H., Dobbs R. E., Orci L. (1978). Insulin, glucagon, and somatostatin in the regulation of metabolism, Ann. Rev. Physiol., 40, 307.
Vale W., Rivier C., Brown M. R. et al. (1983). Chemical and biological characterization of corticotropin releasing factor, Recent Prog. Horm. Res., 39, 245.
Vale W., Greer M. (eds.) (1985). Corticotropin-releasing factor (Kroc Foundation Conference), Fed. Proc., 44, 1—203.
Van Wyck J. J., Underwood L. E. (1978). The somatomedins and their actions. In: Litwack G. (ed.). Biochemical Actions of Hormones, vol. 5. New York, Academic Press, pp. 102—148.
Wade N. (1978). Guillemin and Schally: The years in the wilderness. The three-lap race to Stockholm, and a race spurred by rivalry, Science, 200, 279
Wallis M. (1979). Pituitary GH, Nature, 281, 633.
Weiner R. I., Ganong W. F. (1978). Role of brain monoamines and histamine in regulation of anterior pituitary secretion, Physiol. Rev., 58, 905.

Глава 6

Нейрогипофиз

Некоторые хронологические вехи в изучении нейрогипофиза

Дата		*Исследователи*
1794	Установлено различие между несахарным и сахарным диабетом	Франк (Frank)
1894	Обнаружен прессорный эффект экстрактов гипофиза	Оливер и Шаффер (Oliver, Schaffer)
1897	Установлена локализация прессорного вещества в задней доле гипофиза	Хоуэлл (Howell)
1901	Обнаружено антидиуретическое действие экстракта задней доли гипофиза	Магнус и Шаффер (Magnus, Schaffer)
1906	Обнаружено влияние экстракта задней доли гипофиза на матку	Г. Дейл (Dale)
1910	Обнаружено влияние экстракта задней доли гипофиза на молочные железы	Отт и Скотт (Ott, Scott)
1913	Лечение несахарного диабета введением экстрактов задней доли гипофиза	Фон ден Вельден (Von den Velden) Фарини (Farini)
1928	Разделение вазопрессина и окситоцина	Камм (Kamm)
1949	Выделение окситоцина в чистом виде	Ливермор и Дю Виньо (Livermore, Du Vigneaud)
1953	Синтез гормонов задней доли гипофиза	Дю Виньо и др. (Du Vigneaud et al.)

Как видно из названия, нейрогипофиз, или задняя доля гипофиза, представляет собой вырост нервной системы, а не железу, физически отделенную от мозга. Нейроны, тела которых расположены в супраоптическом и паравентрикулярном ядрах передней области гипоталамуса, проходят через ножку гипофиза в заднюю его долю, и здесь их окончания формируют секреторный аппарат, выделяющий секрет прямо в кровь. *Аргинин-вазопрессин* (АВП, АДГ) играет важнейшую регуляторную роль в задержке воды и поддержании осмоляльности жидких сред организма, объема крови и артериального давления. Он может участвовать и в секреции КРГ (гл. 5), а также механизмах памяти. *Окситоцин* регулирует лактацию и сокращение гладкой мускулатуры матки.

Антидиуретический гормон (АДГ, АВП) — это только один из компонентов сложного комплекса нейрональных, эндокринных и поведенческих механизмов, совместное действие которых обеспечивает гомеостаз жидкости и электролитов в организме. На рис. 6-1 показаны некоторые факторы, обеспечивающие со-

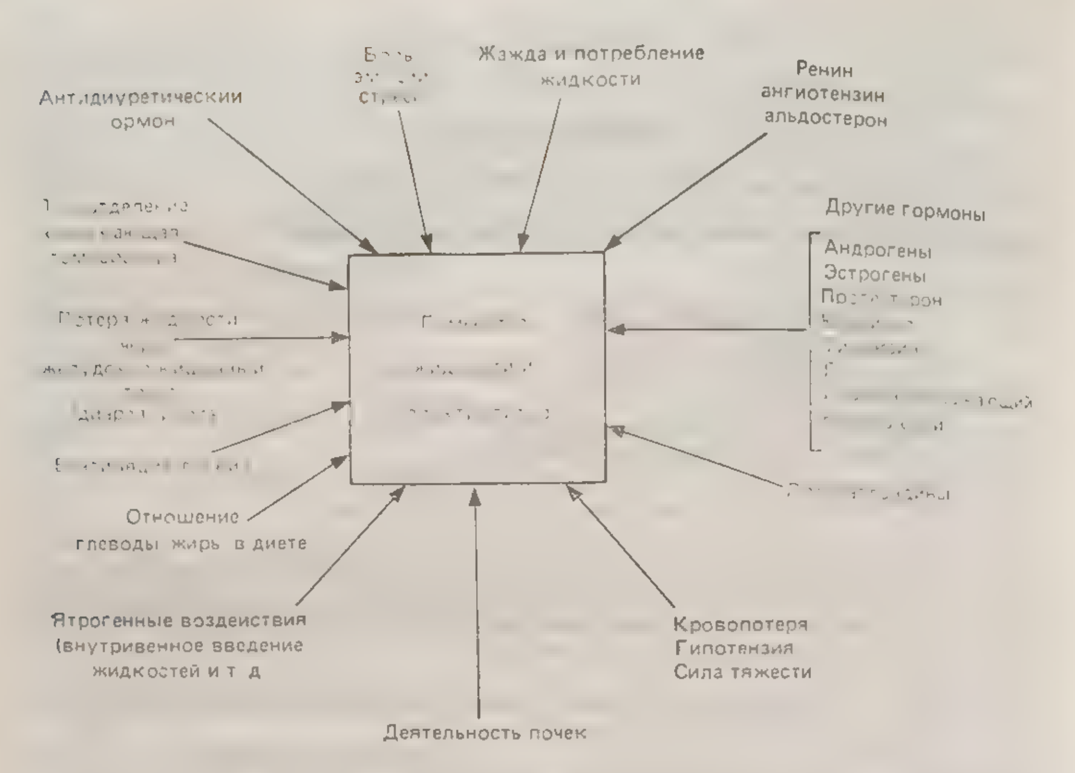


Рис. 6-1. Факторы, обеспечивающие гомеостаз жидкости и электролитов.

хранение и распределение жидкости и электролитов. Хотя отраженная здесь сложность регуляторных процессов производит устрашающее впечатление, это, несомненно, еще очень упрощенная схема. Постоянство водной и электролитной среды поддерживается координированной работой всех механизмов. Особенно четкие взаимосвязи прослеживаются в системе АДГ, ренин-ангиотензиновой системе, а также между жаждой и питьевым поведением.

Хотя здесь не место анализировать все факторы, участвующие в гомеостазе жидкости и электролитов, изображенные на рис. 6-1, все же некоторые разъяснения необходимы. На передовой линии обороны гомеостаза располагаются АДГ, ренин-ангиотензин-альдостерон, жажда и питьевое поведение и, конечно, почки. Другие гормоны имеют более или менее непосредственное отношение к поддержанию водного баланса, воздействуя на почки или изменяя содержание воды в клетках. Факторы диеты указаны здесь в связи с антидиуретическим эффектом высокоуглеводной пищи после некоторого периода голодания. Прочие факторы будут упомянуты в тексте.

Заболевание *несахарный диабет* (НД) характеризуется выделением больших количеств мочи низкой удельной массы и компенсаторной жаждой, которая приводит к потреблению боль-

ших количеств жидкости. Это заболевание может быть врожденным или приобретенным, и синдром, как он был впервые описан, известен под названием центрального или нейрогенного НД. Данная форма заболевания обусловлена относительной недостаточностью АДГ. Ее симптомы могут исчезать под влиянием заместительной терапии либо природным гормоном, либо его синтетическими аналогами (см. ниже).

Нефрогенный несахарный диабет обусловлен не дефицитом АДГ, а неспособностью клеток дистальных отделов нефрона реагировать на гормон. Это в свою очередь может иметь разнообразные причины, которые будут рассмотрены ниже.

Кроме этих состояний недостаточности может возникать и *избыточная секреция АДГ*, приводящая к так называемому синдрому неадекватной секреции антидиуретического гормона. Избыточная секреция АДГ наблюдается при очень многих заболеваниях, к которым относятся: 1) *опухоли* различных тканей, продуцирующие АДГ; 2) *нарушения ЦНС*, сопровождающиеся дисфункцией центральных механизмов регуляции секреции АДГ; 3) различные *легочные заболевания* и 4) побочные эффекты многих *лекарств*.

Чтобы понять эти патологические состояния, необходимо представить себе структуру систем сохранения воды, солей и объема жидких сред организма.

Рис. 6-2 описывает основные физиологические механизмы, регулирующие секрецию АДГ задней долей гипофиза. Секреция АДГ находится под постоянным (тоническим) тормозным контролем со стороны α-адренергического (норадренергического) пути, берущего начало в стволе мозга (рис. 6-2). Снижение артериального давления или объема крови и сигналы из таламуса и рвотного центра могут преодолевать этот тонический ингибиторный эффект и стимулировать секрецию АДГ. Действуют ли все эти стимулирующие факторы непосредственно на нейроны супраоптического ядра — неизвестно. Многочисленные вопросительные знаки на рис. 6-2 отражают недостаточную изученность микроструктуры системы.

Одно время предполагалось, что в роли осмостата и баростата выступают сами пептидергические нейроны. В настоящее время известно, что это не так. Осмотическая регуляция секреции АДГ и жажда прочно сопряжены, т. е. оба механизма включаются при изменении осмоляльности плазмы всего на 1—2%. Хотя регуляция жажды и секреции АДГ одними и теми же осморецепторами доказана недостаточно убедительно, это все же вполне вероятно.

Между тремя основными механизмами поддержания постоянства жидкости, электролитов и объема (АДГ, ренин-ангиотензин-альдостероновая система, жажда и питьевое поведение)

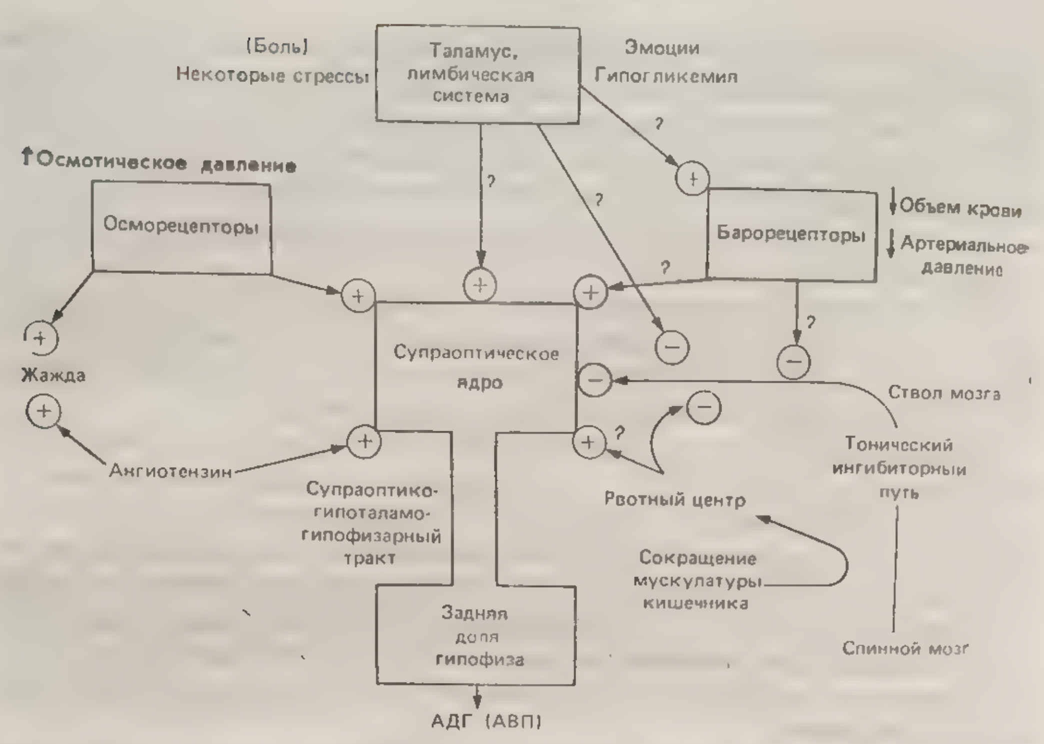


Рис. 6-2. Регуляция секреции АДГ (АВП). Торможение (−) ингибиторного пути (−) эквивалентно стимуляции (+).

существует тесная связь. Как АДГ, так и ренин-ангиотензиновая система реагируют на гиповолемию. Более того, ангиотензин стимулирует выброс АДГ, секрецию альдостерона (для задержки соли), а также жажду и потребление жидкости.

Боль, некоторые формы стресса и эмоции издавна относят к факторам, повышающим секрецию АДГ, и ее рассматривают как одно из проявлений неспецифической реакции на стресс. Однако некоторые воздействия, относимые к стрессорным, не вызывают секреции АДГ, а другие могут быть опосредованы системой барорецепторов.

Важный механизм регуляции секреции АДГ включает рвотный центр, и тошнота сопровождается выбросом больших количеств этого гормона. Предполагается, что сокращение кишечника и манипуляции на нем, например в процессе хирургических вмешательств, могут вызвать резкий выброс АДГ, вероятно, посредством механизма, включающего рвотный центр. В определенной степени это может служить причиной послеоперационной анурии, наблюдающейся иногда после полостных хирургических операций.

Химическая структура пептидов задней доли гипофиза

Расшифровку структуры окситоцина и вазопрессина и их последующий химический синтез (Дю Виньо и др.) можно считать

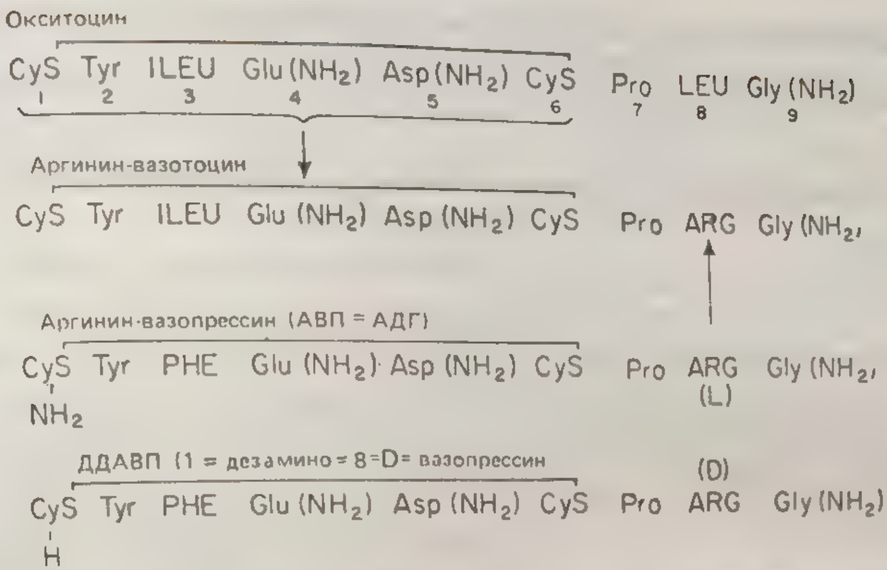


Рис. 6-3. Химическое строение пептидов задней доли гипофиза и ДДАВП. (ДДАВП — 1-дезамино-8-D-аргинин-вазопрессин).

наиболее важными событиями в современной биохимии. Эти вещества оказались близкими по структуре октапептидами, в которых аминокислоты замыкаются в кольцо за счет S—S-связи между молекулами цистеина в положениях 1 и 6, превращающимися в цистин (рис. 6-3). Окситоцин обнаружен практически у всех позвоночных. Сравнительная активность этих соединений показана в табл. 6-1.

Аргинин-вазопрессин обнаружен у человека, лошади, овцы и других видов, но для свиньи и гиппопотама характерен лизин-вазопрессин, содержащий в положении 8 вместо аргинина лизин.

Интересный пример биологически важного соединения, открытого еще *до* того, как оно было выделено из природного источника, представляет собой аргинин-вазотоцин. Исследуя структурно-функциональные отношения, Катсояннис и Дю Виньо (Katsoyannis, Du Vigneaud) присоединили боковую цепь аргинин-вазопрессина к кольцевой структуре окситоцина (см. рис. 6-3). Полученное соединение — аргинин-вазотоцин — в отличие от исходных веществ обладало у млекопитающих равной окситоциновой и вазопрессиновой, или АДГ-активностью. Но при его тестировании на системах других позвоночных (мочевой пузырь и изолированная кожа лягушки) оно оказалось во много раз активнее, чем АДГ млекопитающих. Тем временем другие исследователи постулировали существование специфического «начала, регулирующего водный баланс у амфибий», или «натриферина». Получение синтетического гибридного гормона стимулировало поиски аналогичного вещества у амфибий. В результате выяснилось, что водный баланс у этих животных регулирует

Таблица 6-1. **Сравнительная активность нейрогипофизарных гормонов в различных тест-системах**[1)]

Гормон	Стимуляция матки (крыса, in vitro)	Выброс молока (кролик)	Повышение давления (крыса)	Антидиуретический эффект (собака)
Окситоцин	500	500	7	3
Вазопрессин	30	100	600	600

(По Van Duke et al. (1955). *Recent Prog. Hormone Res.*, **11 : 1**.)

именно аргинин-вазотоцин. В 1969 г. Висольи и Перкс (Vizsolyi, Perks) обнаружили транзиторное существование этого гормона амфибий и у зародыша млекопитающих. Позднее Перкс нашел, что на одной из стадий развития *млекопитающих* (он проводил свои опыты на крысах) нейрогипофизарные пептиды влияют на движение воды через кожу и мочевой пузырь плода точно так же, как это происходит у лягушки!

Получено и исследовано множество синтетических аналогов пептидов задней доли гипофиза. Интересующийся читатель может обратиться к монографии Берде (Berde), в которой подробно описаны результаты этой работы.

Мол. масса аргинин-вазопрессина составляет примерно 1100. Оптимальный антидиуретический эффект у человека вызывают уже 2 нг чистого вещества; максимальный антидиурез наблюдается при введении менее 0,1 мкг.

Одним из важных результатов исследований в области синтетических нейрогипофизарных пептидов можно считать получение вещества, известного под названием ДДАВП (1-дезамино-8-D-аргинин-вазопрессин) и показанного на рис. 6-3. Оно не только обладает чистой антидиуретической активностью (т. е. его прессорная активность составляет всего 1/4000 активности АДГ), но и химически устойчиво. Таким образом, при введении тем же путем, что и АДГ, ДДАВП обычно вызывает более сильную и, что важнее, гораздо более длительную реакцию. ДДАВП — это один из многих примеров искусственных аналогов гормонов, которые более эффективны, чем природный гормон при лечении гормональной недостаточности.

Методы определения гормонов

Биологические методы определения АДГ были и остаются весьма полезными, но они недостаточно чувствительны для точной оценки уровня гормона в крови, поскольку, как правило, основаны на регистрации его вазопрессорной активности. Позднее для определения гормонов задней доли гипофиза с успехом начали применять радиоиммунологические методы, обладающие

очень высокой разрешающей способностью. Аналогичные методы радиоиммунологического анализа (РИА) разработаны и для нейрофизинов (см. след. разд.)

Функциональное единство задней доли гипофиза и гипоталамических ядер

Супраоптическое и паравентрикулярное ядра связаны с окончаниями своих нейронов в нейрогипофизе пучком немиелинизированных нервных волокон. Нервные окончания тесно соседствуют с капиллярами, и венозный отток дренирует железу. Супраоптическое и паравентрикулярное ядра различаются как своими нейронными входами, так и мишенями выходных волокон. Супраоптическое ядро богато клеточными телами АДГ-нейронов, проецирующимися почти исключительно на заднюю долю гипофиза. Паравентрикулярное ядро устроено гораздо сложнее; в нем различают восемь клеточных зон. Среди них кроме небольшого числа АДГ-нейронов имеются окситоцинергические нейроны, а также другие, содержащие КРГ, соматостатин, энкефалины и прочие продукты проопиомеланокортина. Паравентрикулярное ядро соединено многочисленными связями с различными областями ЦНС, а его терминали обнаруживаются не только в задней доле гипофиза, но и в срединном возвышении. Последнее обстоятельство позволяет предполагать, что путем выделения КРГ это ядро участвует в регуляции секреции АКТГ.

Пептиды задней доли гипофиза синтезируются в супраоптическом и паравентрикулярном ядрах в виде компонентов гораздо более крупных прогормонов. Предшественником АДГ и сопутствующего ему белка нейрофизина II является *пропрессофизин* (мол. масса 20 000), а предшественником окситоцина и нейрофизина I — *прооксифизин* (мол. масса 15 000). Прогормоны упакованы в нейросекреторные гранулы, которые содержат ферменты, расщепляющие прогормоны на соответствующие пептиды и нейрофизины. Нейроны каждого типа продуцируют один прогормон, один пептид и один определенный нейрофизин. Биологические функции нейрофизинов неизвестны, но, учитывая, что нейрофизины и пептиды секретируются в стехиометрических количествах, а период полураспада нейрофизинов в сыворотке несколько больше, чем соответствующих гормонов (которые исчезают из крови за несколько минут), их уровень служит интегральным показателем секреции пептидов задней доли гипофиза за несколько часов.

Гранулы перемещаются по нервным волокнам вниз и накапливаются в нервных окончаниях задней доли. Миграция гранул у животных наблюдалась прижизненно, причем ее скорость составляет около 3 мм в сутки. При стимуляции выброса АДГ

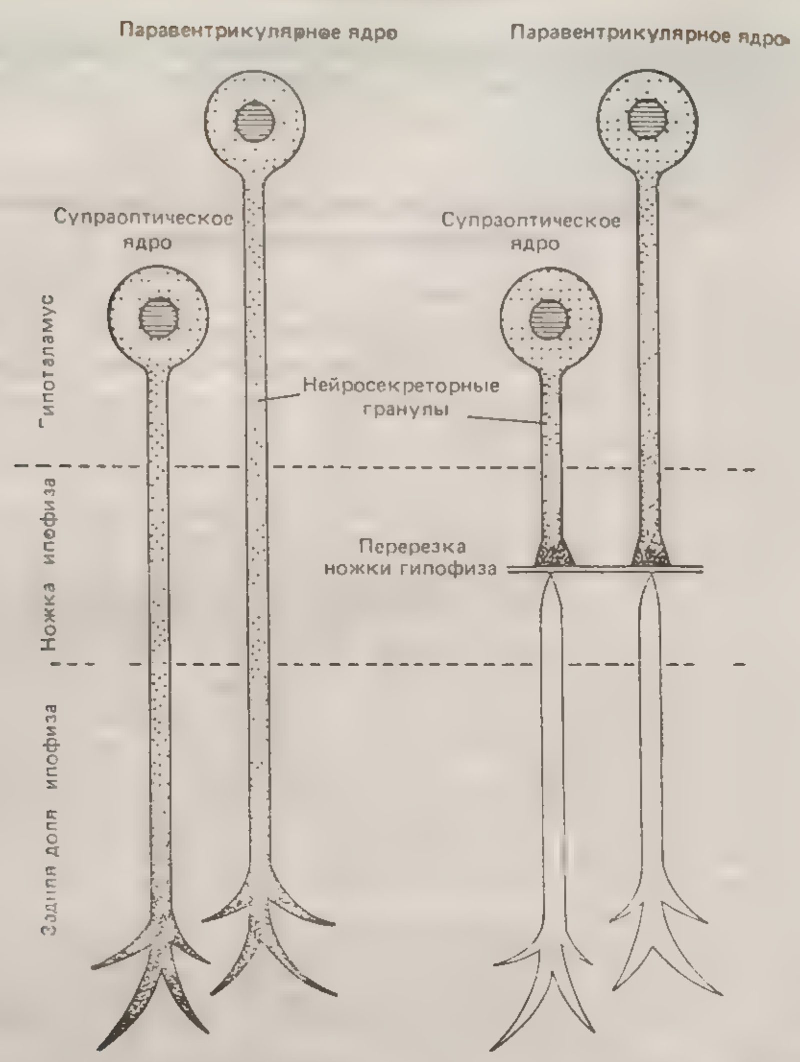


Рис. 6-4. Схема миграции нейросекреторных гранул по гипоталамо-гипофизарному тракту и эффект перерезки ножки гипофиза. Гранулы содержат либо АДГ, либо окситоцин в совокупности со своими нейрофизинами. [По Bargmann, Scharrer; см. Sawyer W. H. (1961). Pharmacol. Rev., 13, 225.]

количество гранул в задней доле гипофиза резко уменьшается. При перерезке ножки гипофиза гранулы ниже перерезки исчезают, но непосредственно над нею накапливаются, напоминая ту ситуацию, которая имеет место в «покоящейся» задней доле гипофиза (рис. 6-4). Более того, выше места перерезки может произойти и перестройка сосудов, и со временем аппарат секреции гормонов восстановится. При введении крысам (в субарахноидальное пространство) ^{35}S-цистеина супраоптические ядра очень активно включают метку, и через несколько часов меченый белок удается обнаружить в задней доле гипофиза. Выделение активных пептидов в кровоток обусловлено переда-

чей сигнала по нервному волокну и миграцией секреторных гранул в заднюю долю. Далее пептиды отщепляются от своих белков-переносчиков и поступают в капилляры.

Некоторые стимулы, особенно кровопотеря, вызывают преимущественный выброс вазопрессина, тогда как другие (анестетики, никотин) стимулируют секрецию как вазопрессина, так и окситоцина, причем последнего — в бóльших количествах. Анализ супраоптического и паравентрикулярного ядер обнаруживает в первом больше вазопрессиновой, а во втором — окситоциновой активности. Это показывает, что под влиянием различных сигналов, возникающих в нервной системе, секрет задней доли гипофиза может быть обогащен тем или другим гормоном.

Физиологические и иные стимулы секреции АДГ

При введении гипертонического раствора прямо в сонную артерию можно наблюдать признаки секреции АДГ (антидиурез) и окситоцина (выброс молока и сокращение матки). И наоборот, при водной нагрузке у животного или человека одним из механизмов экскреции воды служит торможение секреции АДГ. Хотя описано несколько возможных сигналов, вызывающих эти реакции, количественное значение каждого из них оценить невозможно.

В мозге обнаружены специфические осморецепторы, реагирующие на колебания осмотического давления плазмы ответными сигналами либо к выбросу гормонов задней доли гипофиза, либо к торможению их секреции. Считается, что дегидратация вызывает выделение АДГ именно этим путем; водный диурез мог бы осуществляться путем генерации тормозного сигнала также через осморецепторы.

Осмотическим порогом называют ту величину осмоляльности плазмы, при которой начинается секреция АДГ. Эта величина контролируется с исключительной точностью у каждого человека, и хотя между разными людьми имеются некоторые различия в величине осмотического порога, у каждого человека он постоянен, а у однояйцевых близнецов — практически одинаков. На рис. 6-5 приведены результаты определения осмотического порога у 73 здоровых взрослых людей. После пероральной водной нагрузки осмоляльность плазмы снижалась в среднем до 281,7 мОсм/кг. Во время последующего введения гипертонического солевого раствора (5%) осмоляльность плазмы постепенно возрастала, пока не достигала величины 287,3 мОсм/кг, когда, судя по снижению объема мочи и клиренса свободной воды (К$_{H_2O}$), начиналась секреция АДГ.

По вопросу о том, является ли осмотический порог истинным порогом, т. е. точкой на линии непрерывного изменения ос-

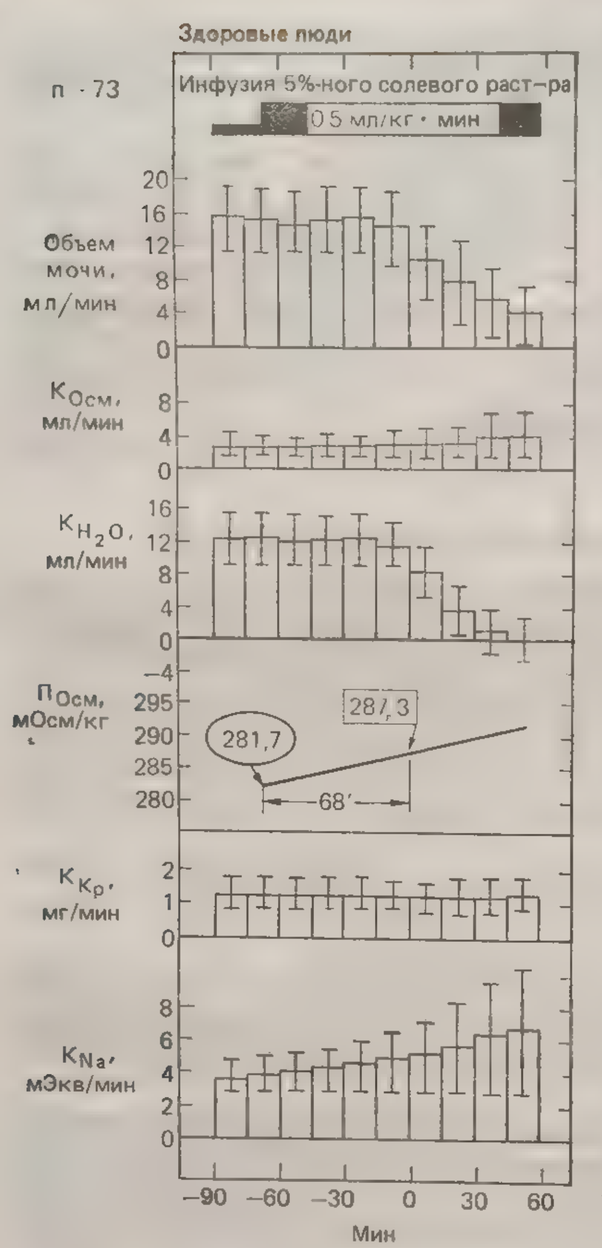


Рис. 6-5. Определение осмотического порога у 73 здоровых людей. $K_{Осм}$ — клиренс растворенных веществ; K_{H_2O} — клиренс свободной воды; $П_{Осм}$ — **осмоляльность плазмы**; $K_{Кр}$ — **клиренс креатинина**; K_{Na} — клиренс натрия. [По Moses A. M., Miller M. (1971). In: Conn H. F., Conn R. B., Jr. (eds) Current Diagnosis, ed. 3., Philadelphia, W. B. Saunders Co. Воспроизведено с разрешения.]

моляльности, при которой система внезапно начинает продуцировать АДГ, или же существует постоянная реакция, меняющаяся по экспоненте при возрастании осмоляльности плазмы, имеются некоторые разногласия. Может быть, вторая точка зрения технически более точна, но конечный эффект, как нам представляется, чрезвычайно напоминает «пороговый» процесс.

Один из наиболее сильных стимулов выделения АДГ — это кровопотеря. Участие осморецепторов в этой реакции маловероятно, поскольку кровопотеря сопровождается гемодилюцией, а не гемоконцентрацией. По-видимому, объем крови постоянно регистрируется какими-то барорецепторными клетками кровеносных сосудов. При критическом падении этого объема сигнал от таких «волюморецепторов» передается по афферентным нервам в ЦНС. Данный сигнал достигает клеток супраоптического и паравентрикулярного ядер, мобилизующих АДГ, и нейроэндо-

кринная рефлекторная дуга замыкается. Наиболее вероятным местом локализации этих особых барорецепторов являются сосуды шеи и грудной клетки, причем некоторые авторы точно таким же образом объясняют секрецию альдостерона — гормона коры надпочечников, вызывающего задержку соли (см. гл. 12). Многие клинические состояния, сопровождающиеся вторичным альдостеронизмом (отеки, асцит), характеризуются появлением больших количеств АДГ в моче. С позиций целесообразности одновременный выброс АДГ и альдостерона после кровопотери обеспечивал бы животным или человеку в условиях ограниченного потребления воды жизненно важные преимущества, поскольку при этом один гормон сохранял бы воду в организме, а второй — хлорид натрия.

Реакция АДГ на кровопотерю оказывается более сильной, чем на осмотические стимулы, причем полезно помнить, что кровопотеря — это единственное известное состояние, при котором АДГ играет существенную роль в качестве вазоконстриктора. Более поздние исследования показывают, что АДГ имеет важное значение в тонической регуляции артериального давления (см. McNeil). Увеличение уровня АДГ в крови, не выходящее за пределы физиологических колебаний (т. е. гораздо меньшее, чем наблюдающееся после кровопотери), вызывает сужение сосудов в мышцах, коже и органах брюшной полости, но артериальное давление при этом не возрастает из-за одновременного снижения минутного объема сердца.

Существует и другая большая группа нейрогенных стимулов, вызывающих выброс АДГ. Роль системы АКТГ — надпочечники в неспецифической реакции на различные воздействия и стрессы (реакция тревоги) подробнее рассматривается в гл. 11. Травма (под вопросом), боль, даже возбуждение перед экзаменом могут вызывать выброс АДГ из задней доли гипофиза точно так же, как они вызывают секрецию АКТГ и активацию коры надпочечников. С другой стороны, воздействие холода стимулирует секрецию АКТГ, но *ингибирует* выделение АДГ, так что эти два гормона, по-видимому, далеко не всегда секретируются вместе. Вероятно, нервные импульсы, возникающие либо на периферии (боль), либо в специализированных органах чувств (пугающий вид или звук), а также хранящаяся в мозге предшествующая информация (ожидание трудных испытаний), могут «запускать» секрецию этих соединений и часто — альдостерона. Значение указанных гормональных факторов для адаптации или выживания будет проанализировано в гл. 11.

Осморецепторные и барорецепторные механизмы

Две системы регуляции секреции АДГ различаются рядом существенных особенностей. Система осморегуляции функцио-

нирует в очень узких пределах: изменение осмоляльности плазмы всего на 1% уже вызывает корригирующую этот сдвиг секрецию АДГ. Что же касается объема крови, то он должен снизиться на 7—15%, прежде чем возникнет подобная ответная реакция. Если обе системы получают противоположные сигналы (например, кровопотеря в условиях гипонатриемии), то «объемная» регуляция преобладает над осморегуляцией.

Взаимодействие этих двух систем осуществляется весьма интересным образом. Если осмотический стимул возникает у лежащего человека, установочная точка «осмостата» оказывается сдвинутой вправо, т. е. для сохранения данной концентрации АДГ в плазме требуется более высокая ее осмоляльность. Если тот же человек встает и жидкость скапливается в ногах (что воспринимается как изменение объема крови в грудной полости), то установочная точка осмостата смещается влево, т. е. увеличение уровня АДГ в плазме происходит при *меньшей* ее осмоляльности. Любопытно вспомнить в этой связи, что у космонавтов в состоянии невесомости возрастает объем мочи, что объясняется, вероятно, отсутствием скопления жидкости в нижних конечностях из-за прекращения действия силы тяжести.

Ограниченная значимость определения гормона в крови

Разработка чувствительных радиоиммунологических методов существенно улучшила возможности диагностики нарушений водного и электролитного балансов, несмотря на тот факт, что весь диапазон изменений от максимального диуреза до максимального антидиуреза покрывается колебаниями концентрации АДГ всего лишь от 0,5 до 5 пг/мл. Само по себе определение уровня АДГ в плазме малоинформативно, поскольку важно знать *его концентрацию по отношению к данной осмоляльности крови*. На рис. 6-6 показан резкий изгиб кривой, отражающей концентрацию АДГ в плазме (осмотический порог) у здоровых людей. Все показатели уровня АДГ в плазме у лиц А, В и С одинаковы, и только одновременные определения осмоляльности плазмы показывают, что эти лица резко отличаются друг от друга. Субъект В попадает в границы нормальных колебаний (что не обязательно говорит о его здоровье; он может, например, страдать нефрогенным несахарным диабетом или «психогенной» жаждой). У субъекта А уровень АДГ слишком высок по отношению к осмоляльности плазмы; следовательно, у него, вероятно, имеется синдром неадекватной секреции антидиуретического гормона. У субъекта С, уровень АДГ которого низок по отношению к осмоляльности плазмы, можно предполагать наличие нейрогенного или центрального НД. При этом заболевании недостаточность АДГ колеблется в широком диа-

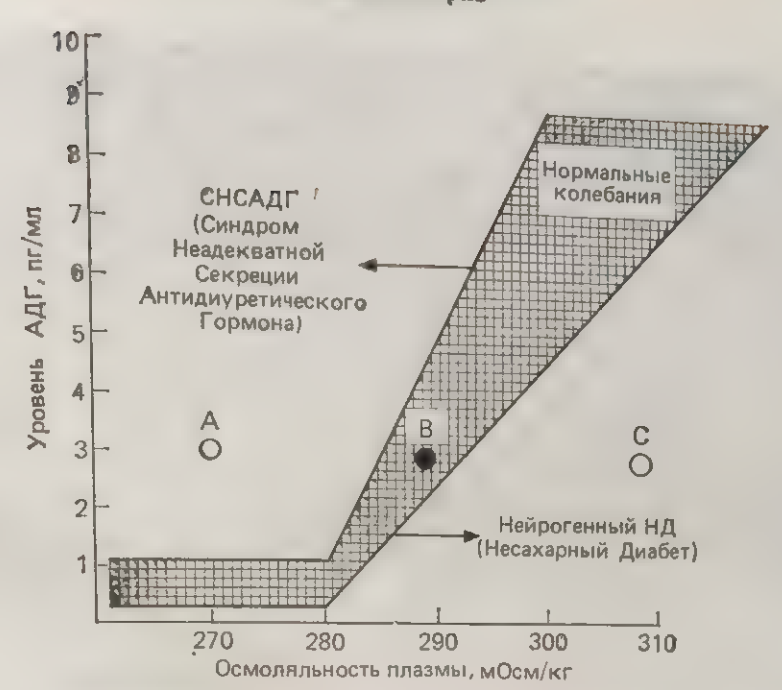


Рис. 6-6. Одновременное определение гормона и параметра, регулируемого этим гормоном.

пазоне — от практически полной (когда увеличение уровня АДГ не происходит даже при очень высоких значениях осмоляльности плазмы) до очень небольшой. Данный пример иллюстрирует общий принцип эндокринологии и относится ко многим другим случаям. Иными словами, определение концентрации гормона в крови приобретает дополнительное значение, *когда оно сочетается с определением параметра, регулируемого данным гормоном*. Так, высокий уровень инсулина в крови говорит об инсулиноме только на фоне гипогликемии, высокий уровень паратиреоидного гормона (ПТГ) указывает на аденому паращитовидных желез только на фоне высокого содержания кальция в сыворотке, а высокий уровень глюкагона имеет диагностическое значение (диабет) только на фоне высокой концентрации глюкозы.

Клеточные механизмы действия АДГ

АДГ влияет в основном на клетки трех типов: 1) клетки почечных канальцев, 2) гладкомышечные клетки сосудов и 3) клетки печени. Влияние гормона на почки заключается в сохранении воды путем стимуляции ее реабсорбции из гипотонической мочи в дистальной части извитых канальцев и собирательных протоков. Действуя на гладкомышечные клетки *кровеносных сосудов*, АДГ, как уже отмечалось, препятствует ги-

потензии при кровопотере и участвует в гомеостатическом поддержании артериального давления. В *печени* эффект АДГ сходен с таковым глюкагона, т. е. он стимулирует гликогенолиз и глюконеогенез. Действительно, у одного из видов, а именно крысы, АДГ выполняет те функции, которые у других видов осуществляются гормонами, индуцирующими синтез цАМФ.

Подобно другим агонистам (ацетилхолину, катехоламинам, гистамину, опиоидам и т. д.), АДГ вызывает неодинаковые изменения в различных клетках, взаимодействуя с разными рецепторами. Уже упоминалось, что некоторые синтетические аналоги АДГ являются чистыми антидиуретиками и вообще не обладают вазоактивными свойствами. Действие на почечные канальцы и на сосуды оказывают разные части молекулы пептида. Рецепторы АДГ в почках известны как V_2-рецепторы, а в кровеносных сосудах и печени — как V_1-рецепторы. Как и в случае других гормонов и нейромедиаторов, имеющих множественные рецепторы, различные типы рецепторов АДГ активируют разные эффекторные системы и тем самым опосредуют разные биологические эффекты.

V_2-рецепторы чувствительных к АДГ клеток *почечных* канальцев расположены на *контрлюминальной,* т. е. обращенной к крови и лимфе поверхности канальца. В клеточной мембране они взаимодействуют с комплексом G-белок-аденилатциклаза и стимулируют образование цАМФ. Наиболее отчетливый биологический эффект повышенного уровня цАМФ регистрируется на *люминальной* мембране с противоположной (контактирующей с содержимым канальца) стороны клетки. В отсутствие АДГ люминальные мембраны чувствительных клеток практически непроницаемы для воды, хотя речь идет о таком уровне нефрона, на котором клубочковый фильтрат (модифицированный) гипотоничен. В результате образуется гипотоничная моча, т. е. утрачивается ион-концентрирующая способность почек. При взаимодействии АДГ с рецепторами увеличивается концентрация цАМФ, фосфорилируются какие-то, пока не идентифицированные, белки, и отдельные белковые частицы, хорошо видимые на электронных микрофотографиях (метод замораживания — скалывания, Kachadorian et al.), перемещаются из глубины клетки к ее люминальной мембране, где собираются в агрегаты. Эти примечательные частицы придают ранее водонепроницаемой люминальной мембране способность транспортировать в клетку воду, свободную от ионов. Вода поступает по градиенту концентрации, так как канальцевая моча, откуда она извлекается, гипотонична по отношению к содержимому клетки. С помощью светового микроскопа можно убедиться, что вода на своем пути из гломерулярного фильтрата назад во внеклеточную жидкость действительно проходит сквозь клетку (рис. 6-7).



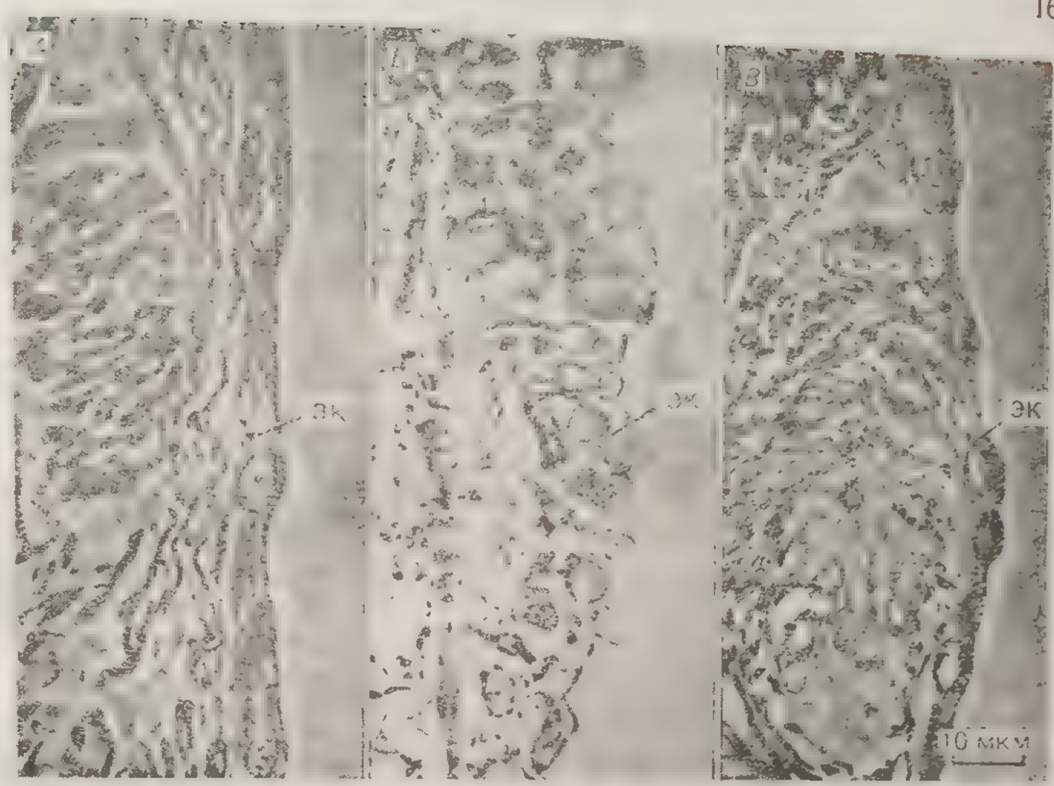


Рис. 6-7. Микрофотографии срезов мочевого пузыря жабы. *А* — контроль, *Б* — фиксация во время действия антидиуретического гормона, *В* — фиксация после прекращения действия гормона. ЭК — эпителиальная клетка. [По Peachey L. D., Rasmussen H. (1961). J. Biophys. Biochem. Cytol., **10**, 529. Воспроизведено с разрешения.]

Эти эффекты АДГ воспроизводят дб-цАМФ. Судя по тому, что ингибиторы кальмодулина ослабляют биологический эффект АДГ, в реакции, очевидно, участвует не только цАМФ, но и комплекс кальций-кальмодулин. Хотя субстраты протеинкиназ, ответственные за перенос H_2O из глубины клетки к ее люминальной мембране, не идентифицированы, некоторые из них, вероятно, имеют отношение к микротрубочкам, поскольку агенты, дезагрегирующие последние (колхицин, алкалоиды барвинка), ингибируют действие АДГ.

АДГ стимулирует синтез простагландинов и других эйкозаноидов в клетках почечных канальцев. $ПГЕ_2$ противодействует эффекту АДГ; в то же время вещества, нарушающие синтез ПГ (например, индометацин), усиливают его эффект. Это показывает, что синтез ПГ является компонентом реакции на АДГ и что $ПГЕ_2$ может действовать как тормозящий агент, т. е. как регулятор данной реакции.

Реакция *сосудов* (V_1-рецепторы) заключается в сокращении их гладкомышечного слоя и должна поэтому опосредоваться увеличением концентрации Ca^{2+} в цитозоле. В реакции участву-

Таблица 6-2. Эффекты АДГ в почках, кровеносных сосудах и печени

Ткань	Почечные канальцы	Гладкие мышцы сосудов	Печень
Тип рецептора	V_2	V_1	V_1
Посредник	Ca^{2+}-кальмодулин цАМФ	Ca^{2+}-кальмодулин, инозитолтрифосфат?	Ca^{2+}-кальмодулин, инозитолтрифосфат
Биологический эффект	Транслокация, агрегация переносчиков H_2O у люминальной мембраны	Сокращение	Гликогенолиз, глюконеогенез

ет и кальмодулин, однако о роли фосфатидилинозитолового механизма в данном эффекте АДГ определенные данные отсутствуют.

В печени крыс (V_1-рецепторы) АДГ, как и другие гормоны (катехоламины, ангиотензин II), стимулирует гликогенолиз и глюконеогенез. Эти эффекты не связаны с цАМФ, а опосредуются увеличением концентрации Ca^{2+} в цитозоле как за счет его мобилизации из эндоплазматического ретикулума, так и за счет усиления притока Ca^{2+} в клетку из внеклеточного пространства. При этом кругооборот фосфатидилинозитола ускоряется, и инозитолтрифосфат служит основным фактором мобилизации Ca^{2+} из внутренних запасов клетки. Ca^{2+} действует через Ca^{2+}-кальмодулин-стимулируемую протеинкиназу, а также путем прямого влияния на ферменты. Роль протеинкиназы С в этих сложных реакциях, если и существует, то пока не выяснена (Williamson).

АДГ оказывает выраженное влияние на ЦНС и поведение, но клеточные механизмы этих эффектов изучены недостаточно. В некоторых отделах мозга обнаружены V_1-рецепторы. АДГ обладает положительным действием как на консолидацию следов памяти, так и на мобилизацию хранимой информации; окситоцин оказывает противоположное действие, т. е. является амнестическим пептидом. Это позволяет предположить, что АДГ в ЦНС действует через V_1-рецепторы и что они конкурентно ингибируются окситоцином.

В табл. 6-2 суммированы данные о клеточных механизмах действия АДГ через V_1- и V_2-рецепторы.

Нефрогенный несахарный диабет

Причиной ряда состояний, обозначаемых термином *нефрогенный несахарный диабет,* является ареактивность клеток дистальных отделов нефрона по отношению к АДГ. Этот синдром может служить примером все возрастающего числа заболева-

ний, при которых отсутствие гормонального эффекта связано не с недостаточным поступлением гормона, а с неспособностью клеток-мишеней реагировать на него. Нефрогенный НД может быть врожденным, приобретенным или вызванным фармакологическими средствами. Врожденный НД изучался не только у человека, но и у экспериментальных животных (см. Dousa).

У экспериментальных животных (мыши) *врожденный дефект* затрагивает, очевидно, систему передачи гормонального сигнала на аденилатциклазу, поскольку связывание АДГ с рецептором не нарушено, но при действии АДГ образуется меньше цАМФ. Стимуляция аденилатциклазы фторидом полностью сохранена. У таких животных, страдающих полиурией, АДГ не улучшает концентрирующей способности почек.

У человека нефрогенный НД представляет бóльшие трудности для изучения. У таких больных АДГ не вызывает увеличения концентрации цАМФ в моче. У них не усиливается концентрирование мочи и при внутривенном введении цАМФ, как это характерно для здоровых людей и больных с центральным, или нейрогенным, НД. Хотя эти данные трудно интерпретировать, они указывают на сложный дефект механизма реакции клеток дистальных канальцев.

Фармакология системы АДГ

Вещества и ионы, меняющие реактивность почек по отношению к АДГ

Введение ряда *лекарственных препаратов* может привести к нарушениям реакции на АДГ.

Литий

Литий неконкурентно ингибирует действие АДГ на аденилатциклазу в мозговом слое почек кролика и человека. Базальная активность фермента при этом не снижается. Литий способен также блокировать действие АДГ на этапах, следующих за синтезом цАМФ. В результате развивается относительная нечувствительность к АДГ и нарушается концентрирующая функция почек. Эти данные имеют определенное практическое значение, поскольку литий широко применяется для лечения маниакальных психозов.

Деметилхлортетрациклин

Деметилхлортетрациклин представляет собой антибиотик, избирательно влияющий на концентрирующую функцию почек и не затрагивающий другие их функции. В мозговом слое почки

человека это соединение ингибирует базальную, стимулированную фторидом и стимулированную АДГ аденилатциклазную активность. Более того, оно ингибирует еще и протеинкиназы. Деметилхлортетрациклин столь эффективно блокирует реакцию органа-мишени на АДГ, что его даже испытывают в качестве возможного средства лечения синдрома неадекватной секреции АДГ.

Аналоги вазопрессина

Аналоги вазопрессина (например, вазопрессиновая кислота) препятствуют действию АДГ, конкурентно связываясь с рецепторами на плазматической мембране. Это лишь один из многих аналогов гормонов, которые способны связываться рецептором, но не инициируют биологической реакции.

Нарушить чувствительность к АДГ могут и различные изменения *ионного окружения* эпителиальной клетки почки. Примеры тому — гипокалиемия и гиперкальциемия.

Гипокалиемия

Как у больных, так и у экспериментальных животных с хронической недостаточностью калия наблюдается нарушение концентрирующей способности почек. Механизм этого нарушения неясен, но оно связано, вероятно, с изменением биологического эффекта цАМФ в клетках, а не с утратой их способности повышать синтез цАМФ под действием АДГ.

Гиперкальциемия

Гиперкальциемия может вызвать нечувствительность к АДГ. Как отмечалось в гл. 3, кальций играет важную регуляторную роль в функционировании системы цАМФ-протеинкиназа. В концентрациях, легко достижимых во внеклеточной жидкости (10^{-3} М), он может ингибировать как базальную, так и стимулированную АДГ аденилатциклазную активность. Хотя внутриклеточная концентрация кальция на два-три порядка ниже, чем внеклеточная, высокое содержание Ca^{2+} в окружающей клетки среде может в конечном итоге препятствовать активации циклазы и, кроме того, нарушать агрегацию микротрубочек. В результате снижается чувствительность к АДГ и уменьшается реабсорбция свободной воды.

Лекарственные препараты, влияющие на секрецию АДГ

Во многих случаях лекарственные вещества могут либо стимулировать, либо ингибировать секрецию АДГ, вызывая тем самым или задержку жидкости в организме, или диурез. Боль-

Таблица 6-3. Вещества, влияющие на секрецию АДГ[1]

Категория вещества	Стимуляция секреции АДГ	Торможение секреции АДГ
Нейромедиаторы	Изопротеренол (β-миметик) Ацетилхолин (АЦХ) Никотин (агонист никотиновых рецепторов АЦХ)	Норадреналин (α-миметик)
Гормоны	Ангиотензин	Глюкокортикоиды надпочечников
Наркотические, седативные и др. средства	Эфир Фенобарбитал	Этанол Морфин
Транквилизаторы	—	Резерпин, хлорпромазин
Противосудорожные средства	Карбамазепин	Дифенилгидантоин
Гипогликемизирующие средства	Хлорпропамид	—
Снижающие уровень липидов	Клофибрат	—
Антинеопластические	Винкристин Циклофосфамид	—

[1]) По A. Moses, с модификациями.

шинство таких средств используется с целью воздействия на ЦНС, но некоторые из них обладают и другими эффектами. В табл. 6-3 суммировано действие фармакологических препаратов на секрецию АДГ. Ацетилхолин (АЦХ) и вещества, имитирующие или потенцирующие его эффекты, например никотин, оказывают стимулирующее действие. Действительно, у заядлых курильщиков часто наблюдается высокая секреция АДГ.

Эксперименты с агонистами катехоламинов и блокаторами их специфических рецепторов показали, что β-адреномиметики (изопротеренол) являются стимуляторами, а блокаторы рецепторов — ингибиторами секреции АДГ.

Уже упоминалось, что ангиотензин — стимулятор биосинтеза альдостерона — активирует секрецию АДГ и вызывает жажду, координируя, таким образом, процессы задержки воды, соли и восстановления объема крови (см. гл. 12). Глюкокортикоиды оказывают сложное действие на водный баланс: они необходимы для быстрой элиминации водной нагрузки и в то же время снижают чувствительность осмостата к обычным осмотическим стимулам, т. е. смещают осмотический порог вправо.

Сложность проблемы усугубляется тем фактом, что глюкокортикоиды, ингибируя продукцию простагландинов чувствительными к АДГ клетками почечных канальцев, тем самым

увеличивают их чувствительность к гормону (см. выше, раздел «Клеточные механизмы действия АДГ»). Неудивительно, что суммарный эффект глюкокортикоидов на систему АДГ in vivo точно предсказать невозможно.

До 1979 г. морфин единогласно считался ***стимулятором*** секреции АДГ. Однако затем специалисты с таким же единодушием признали его *ингибитором* секреции АДГ. Первоначальная ошибка была связана с неправильной постановкой экспериментов.

Этиловый эфир и фенобарбитал продолжают считать стимуляторами секреции АДГ. Наиболее известным ингибитором выделения АДГ является широко применяемый во всем мире этиловый спирт. Морфин, этиловый спирт, этиловый эфир и фенобарбитал относятся к нейродепрессантам, но их действие на механизм секреции АДГ должно опосредоваться избирательными эффектами на разные компоненты системы.

Хлорпропамид представляет собой пероральное гипогликемизирующее средство из группы сульфонилмочевины (см. гл. 14). Это вещество применяется для лечения сахарного диабета у взрослых людей, хотя и не столь часто, как 10 лет назад. Его эффект был обнаружен больным несахарным диабетом, который поставил себе неверный диагноз и сам прописал себе хлорпропамид. Прием этого лекарства обусловил исчезновение полиурии. Врач установил правильный диагноз и подтвердил антидиуретический эффект хлорпропамида. Вскоре было проведено множество исследований механизма этого эффекта. Препарат оказался неэффективным при таком нейрогенном НД, когда секреция АДГ полностью отсутствовала. Если же некоторая способность к секреции АДГ сохранялась, то хлорпропамид усиливал ее в ответ на стандартные осмотические стимулы. Кроме того, он потенцировал эффект экзогенно вводимого вазопрессина как у больных с НД, так и у крыс определенной линии (Бретлборо) с наследственным гипоталамическим НД.

Клофибрат — вещество, снижающее уровень липидов в крови, тоже стимулирует секрецию АДГ; механизм эффекта неизвестен. К стимуляторам секреции АДГ относятся и противоопухолевые средства — винкристин и циклофосфамид.

Таким образом, лекарственные вещества могут влиять на систему АДГ-почечные клетки, изменяя либо скорость секреции гормона, либо реакцию клеток-мишеней на данное количество гормона.

Окситоцин

Общая схема продукции окситоцина — миграция по аксонам в комплексе со своим нейрофизином, запасание в задней доле гипофиза и секреция — в целом подобна таковой вазопрессина,

или АДГ. Имеются убедительные данные о независимости регуляции секреции обоих нейропептидов: выделение одного из них может происходить под действием стимулов, не влияющих на секрецию другого.

Физиологические функции

Отделение молока

Отделение, или выброс, молока — это основной биологический эффект окситоцина. Этот пептид секретируется в ответ на нервные сигналы, возникающие в соске во время акта сосания, — классический пример нейроэндокринного рефлекса. Окситоцин выделяется и в *предвидении* кормления, т. е. когда мать слышит крик своего ребенка. Молоко, секретируясь, скапливается в просветах альвеол и протоков, имеющих небольшой внутренний диаметр. Выброс молока происходит потому, что окситоцин стимулирует сокращение высокоспециализированных миоэпителиальных клеток, «изгоняя» тем самым накопленное молоко в крупные протоки и собирательные цистерны. Наиболее отчетливо влияние окситоцина на молочную железу проявляется у коров, у которых одна инъекция гормона повышает давление в вымени на 10—15 мм рт. ст.

Сокращение матки

Влияние окситоцина на гладкую мускулатуру матки зависит от вида животного, фазы эстрального или менструального цикла и стадии беременности. Эстрогены, как правило, сенсибилизируют миометрий к действию окситоцина, а прогестерон снижает его чувствительность. Попытки показать роль окситоцина в инициации родов или даже во время них оказались безуспешными. К моменту родов концентрация окситоцина очень высока в крови *плода* (см. след. разд).

Клеточный механизм действия

Во фракции плазматических мембран клеток матки и молочной железы крыс найдены участки, способные эффективно (с высоким сродством) связывать ^{3}H-окситоцин (см. Soloff et al.). Сродство этих рецепторов к аналогам окситоцина, как правило, соответствует уровню биологической активности последних.

Концентрация рецепторов окситоцина в гладкой мускулатуре матки возрастает у беременных женщин и достигает максимума на ранних стадиях родового акта. Аналогично и в эн-

дометрии число рецепторов увеличивается, достигая максимума при родах. Окситоцин стимулирует продукцию простагландинов в эндометрии, но не в гладкой мускулатуре матки. Он может участвовать в начале родов как прямо, вызывая сокращение мышц матки, так и опосредованно, стимулируя эндометрий к продукции простагландинов, которые являются сильными активаторами сокращения гладких мышц и могут оказывать эффект паракринным путем. Таким образом, начало родов может быть следствием совместного действия окситоцина и местно продуцируемых простагландинов. Известно, что плод сигнализирует о своей готовности к родам; высказано предположение (Fuchs et al.), что одним из компонентов подобной сигнализации является окситоцин, который вызывает синтез простагландинов в эндометрии. Тот факт, что простагландины играют важную роль в начале родов, доказывается задержкой родов у женщин, получавших ингибиторы синтеза этих соединений.

Сокращение миоэпителиальных клеток молочной железы (клеточная основа выброса молока) под действием окситоцина обусловлено фосфорилированием миозина. Эффект гормона сопровождается и увеличением уровня цАМФ в этих клетках, но фосфорилирование миозина не связано с действием цАМФ-зависимой протеинкиназы. Как фосфорилирование миозина, так и сокращение блокируются ингибиторами притока Ca^{2+} в клетку. Следовательно, этот эффект окситоцина опосредован комплексом Ca^{2+}-кальмодулин (Olins, Bremel).

Клиническое применение

Не описаны состояния недостаточности окситоцина. Однако этот пептид применяется для стимуляции сокращений матки во время и после родов.

Литература[1]

Bartter F. C. (1973). The syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone (SIADH), DM, **1**.

Baylis P. (1983). Posterior pituitary function in health and disease, Clin. Endocrinol. Metab., **12**, 747.

Cobb W. E., Spare S., Reichlin S. (1978). Neurogenic diabetes insipidus: Management with DDAVP (1-Desamino-8-D arginine vasopressin), Ann. Intern. Med., **88**, 183.

Cross B. A., Leng G. (eds.) (1983). The Neurohypophysis: Structure, Function, and Control: Progress in Brain Research, vol. 60, New York, Elsevier North-Holland, Inc.

[1] См. примечание на с. 40.

De Wied D. (1983). Central actions of neurohypophysial hormones, in Cross B. A., Leng G. (eds.). The Neurohypophysis: Structure, Function, and Control: Progress in Brain Research, vol. 60, New York, Elsevier North-Holland, Inc., pp. 155—167.

Dousa T. P. (1977). Cyclic nucleotides in the cellular actions of neurohypophysial hormones, Fed. Proc., **36**, 1867.

Fitzsimons J. T. (1976). The physiological basis of thirst, Kidney Int., **10**, 3.

Fuchs A.-R., Fuchs F., Husslein P. et al. (1982). Oxytocin receptors and human parturition: A dual role for oxytocin in the initiation of labor, Science, **215**, 1396.

Gainer H., Sarne Y., Brownstein M. J. (1977). Neurophysin biosynthesis: Conversion of a putative precursor during axonal transport, Science, **195**, 1354.

Handler J. S., Orloff J. (1981). Antidiuretic hormone, Ann. Rev. Physiol., **43**, 611.

Hays R. M. (1983). Alteration of luminal membrane structure by antidiuretic hormone, Am. J. Physiol., **245** (Cell Physiol. 14), C289.

Jard S., Butlen D., Cantau B. et al. (1984). The mechanism of action of antidiuretic hormone, Adv. Nephrol., **13**, 163.

Kachadorian W. A., Wade J. B., Di Scala V. A. (1975). Vasopressin: Induced structural change in toad bladder luminal membrane, Science, **190**, 67.

Kirk C. J., Creba J. A., Hawkins P. T. et al. (1983). Is vasopressin-stimulated inositol lipid breakdown intrinsic to the mechanism of Ca^{2+} mobilization at V_1 vasopressin receptors? In: Cross B. A., Leng G. (eds.). The Neurohypophysis: Structure, Function, and Control: Progress in Brain Research, vol. 60, New York, Elsevier North-Holland, Inc., pp. 405—411.

Litisch I., Lin S.-H., Fain J. N. (1983). Rapid changes in hepatocyte phosphoinositides induced by vasopressin, J. Biol. Chem., **258**, 13727.

McNeill J. R. (1983). Role of vasopressin in the control of arterial pressure, Can. J. Physiol. Pharmacol., **61**, 1226.

Moses A. M., Miller M. (1971). Osmotic threshold for vasopressin release as determined by saline infusion and by dehydration, Neuroendocrinology, **7**, 219.

Moses A. M., Miller M., Streeten D. H. P. (1976). Pathophysiologic and pharmacologic alterations in the release and actions of ADH, Metabolism, **25**, 697.

Olins G. M., Bremel R. D. (1984). Oxytocin-stimulated myosin phosphorylation in mammary myoepithelial cells: Roles of calcium ions and cyclic nucleotides, Endocrinology, **114**, 1617.

Perks A. M. (1973). Developmental and evolutionary aspects of the neurohypophysis, Am. Zool., **17**, 833.

Reaven E., Maffly R., Taylor A. (1978). Evidence for the involvement of microtubules in the action of vasopressin in toad urinary bladder, J. Membr. Biol., **40**, 251.

Robertson G. L. (1981). Diseases of the posterior pituitary. In: Felig P., Baxter J. D., Broadus A. E. et al. (eds.). Endocrinology and Metabolism, New York, McGraw-Hill Book Co, pp. 251—280.

Robertson G. L. (1985). Vasopressin. In: Ingbar S. H. (ed.). Contemporary Endocrinology, vol. 2, New York, Plenum Publishing Corp., pp. 403—450.

Sawyer W. H. (1977). Evolution of active neurohypophysial principles among the vertebrates, Am. Zool., **17**, 727.

Schlondorff D., Levine S. L., Salisbury J. (1984). Interaction of cAMP and calcium-calmodulin in the action of vasopressin, Adv. Nephrol., **13**, 319.

Share L. (ed.) (1984). Vasopressin and cardiovascular regulation (symposium), Fed. Proc., **43**, 78—106.

Soloff M. S., Schroeder B. T., Chakrabarty J. et al. (1977). Characterization of oxytocin receptors in the uterus and mammary gland, Fed. Proc., **36**, 1861.

Thomas A. P., Alexander J., Williamson J. R. (1984). Relationship between inositol polyphosphate production and the increase of cytosolic free Ca^{2+} induced by vasopressin in isolated hepatocytes, J. Biol. Chem., **259**, 5574.

Verbalis J. G., Robinson A. G. (1985). Neurophysin and vasorpessin: Newer concepts in secretion andd regulation. In: Imura H. (ed.). The Pituitary Gland, New York, Raven Press, pp. 307—339.
Williamson J. R., Cooper R. H., Joseph S. K. et al. (1985). Inositol triphosphate and diacylglycerol as intracellular second messengers in liver, Am. J. Physiol., 248 (Cell. Physiol., 17), C203.

Глава 7

Эпифиз (шишковидная железа)

Некоторые хронологические вехи в изучении эпифиза

Дата		*Исследователи*
300 лет до н. э.	Высказано предположение, что эпифиз регулирует память	Герофил (Herophilus)
XVII в.	Высказана точка зрения, что эпифиз — вместилище души	Декарт (Descartes)
XVIII в.	Возникло представление о том, что эпифиз связан с психическими расстройствами	Многие
1899	Описаны опухоли эпифиза у детей, сопровождающиеся преждевременным половым развитием	Огле, Хойбнер (Ogle, Houbner)
1941	Показано, что воздействие света нарушает эстральный цикл у крыс	Фиске (Fiske)
1954	Установлено, что опухоли, происходящие из пинеалоцитов, сопровождаются снижением половой функции, а опухоли, разрушающие эпифиз, — преждевременным половым созреванием	Китэй (Kitay)

Открытие мелатонина и пути его синтеза

После того как Лернер (Lerner) и др. в 1959 г. выяснили структуру мелатонина, биохимические и физиологические данные об эпифизе стали быстро нарастать. Вейссбах и Аксельрод (Weissbach, Axelrod) расшифровали путь биосинтеза мелатонина из его предшественника — аминокислоты триптофана и доказали присутствие в эпифизе всех необходимых для этого ферментов (рис. 7-1). Параллельно в той же лаборатории Вуртман и др. (Wurtman et al.) обнаружили, что воздействие света тормозит функцию эпифиза, в том числе скорость син-

ТРИПТОФАН

Триптофангидроксилаза

5-ОН ТРИПТОФАН

Декарбоксилаза L аминокислот

СЕРОТОНИН

Серотонин-N ацетилтрансфераза

АЦЕТИЛСЕРОТОНИН

Гидроксииндол О-метилтрансфераза

МЕЛАТОНИН

Рис. 7-1. Биосинтез мелатонина.

теза мелатонина. Кроме того, был выявлен нейронный путь сетчатка глаза⟶ретино-гипоталамический тракт⟶симпатические ганглии⟶эпифиз (Kappers).

Методы определения мелатонина

Прогресс в этой области обеспечила разработка высокочувствительного биологического метода определения мелатонина, основанного на посветлении темной кожи амфибий. При этом чрезвычайно важна возможность использования чистого вещества для построения стандартной кривой. В настоящее время для количественного определения мелатонина в основном применяют радиоиммунологический метод.

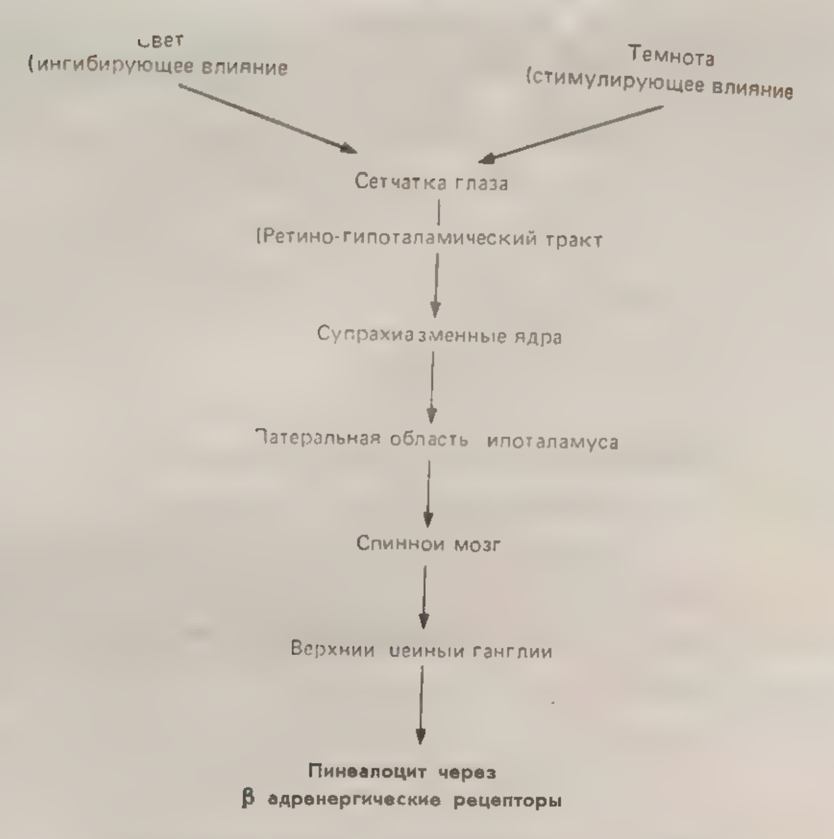


Рис. 7-2. Макрорегуляция функции пинеалоцита.

Запасание и секреция

В отличие от желез, содержащих запас готового для секреции гормона, который выбрасывается в ответ на определенный стимул, изменение скорости секреции мелатонина эпифизом обусловлено, по-видимому, изменением скорости его синтеза. В этом отношении эпифиз напоминает железы, продуцирующие стероидные гормоны, в которых обычно накапливается не готовый продукт, а присутствует предшественник гормона. В случае эпифиза доступность предшественника мелатонина, а именно триптофана, очевидно, не лимитирует скорости секреции.

Сигналы для синтеза и секреции мелатонина

Непосредственным стимулом к повышению скорости синтеза и секреции мелатонина служит норадреналин. На рис. 7-2 перечислены факторы, которые определяют количество катехоламинов, воздействующих на клетку эпифиза. Главным среди этих факторов является свет: он *ингибирует* выброс норадреналина симпатическими нервными окончаниями, контактирующими с пинеалоцитами; в темноте же секреция норадреналина по-

вышается. Информация об освещенности передается из окружающей среды через сетчатку глаза в ЦНС и затем по преганглионарным волокнам в верхний шейный ганглий и мозговой слой надпочечников. Отростки постганглионарных нейронов из верхнего шейного узла доходят до клеток самого эпифиза.

Синтез и секреция мелатонина у крыс возрастают в условиях иммобилизационного стресса и гипогликемии. Другие факторы, например периодичность приема пищи и содержание триптофана в диете, тоже могут влиять на скорость секреции мелатонина. У крыс и других животных циклы свет — темнота определяют ритмичность секреции этого гормона, которая в темноте выше, чем на свету. У человека на ночные часы (с 11 вечера до 7 утра) приходится 70% суточной продукции мелатонина.

Один из наиболее выраженных эффектов мелатонина заключается в торможении секреции гонадотропинов, что было показано в старых работах и подтверждено более поздними исследованиями. Характерная особенность эндокринной реакции на стресс (подробнее обсуждаемой в гл. 11) состоит в том, что секреция ряда гормонов при стрессе возрастает (глюкокортикоиды надпочечников, альдостерон, вазопрессин, гормон роста), тогда как секреция инсулина и гонадотропинов снижается. Механизм этого снижения неясен, но, поскольку стресс стимулирует выделение мелатонина, последний может принимать участие в стрессорном угнетении секреции гонадотропинов.

Регуляция синтеза мелатонина на уровне клетки

Взаимодействие норадреналина с β- и α-адренергическими рецепторами на плазматической мембране пинеалоцита имеет несколько следствий (рис. 7-3). Действие через β-рецептор приводит к активации *аденилатциклазы* и увеличению синтеза цАМФ. Взаимодействие с α-рецептором стимулирует кругооборот *полифосфатидилинозитола* и высвобождение инозитолтрифосфата и диацилглицерола. При этом из мембранных фосфолипидов *высвобождается арахидоновая кислота* и, как было показано, накапливается простагландин E, хотя могут появляться и другие метаболиты арахидоновой кислоты. Все эти посредники совместно активируют фосфорилирование белков, которые избирательно усиливают образование специфических мРНК ключевых ферментов биосинтеза мелатонина — серотонин-N-ацетилтрансферазы и гидроксииндол-O-метилтрансферазы (ОИМТ) (см. рис. 7-1). Так как поступление триптофана не лимитировано, именно вновь синтезированные ферменты обеспечивают повышение синтеза и секреции мелатонина.

В клетках эпифиза выявлен феномен снижающей регуляции рецепторов. Для определения числа рецепторов норадреналина

использовали β-блокатор ^{3}H-альпренолол (Kebabian et al.). Было обнаружено, что в эпифизе животных, находившихся при постоянном освещении (т. е. в условиях торможения выделения норадреналина), связывание метки и соответственно количество рецепторов возрастает, тогда как в эпифизе, предварительно стимулированном β-агонистами, связывание ^{3}H-альпренолола снижается.

Судьба секретируемого мелатонина

Мелатонин характеризуется коротким периодом полураспада в крови. Он инактивируется печенью и выводится с мочой. Суммарная экстракция мелатонина с мочой рассматривается обычно как показатель уровня секреции. С помощью этого показателя удается проводить неинвазивные исследования на человеке.

Биологическое действие мелатонина

Основной эффект мелатонина — *торможение секреции гонадотропинов.* Считают, что это торможение осуществляется на двух уровнях: 1) на уровне клеток, контролирующих активность тех пептидергических нейронов, которые секретируют ГнРГ в воротные сосуды гипофиза, и 2) непосредственно на уровне самого гипофиза. Поскольку влияние на секрецию гонадотропинов наблюдается и при внутрижелудочковом введении мелатонина, можно предположить, что тот мелатонин, который выделяется под действием катехоламинов, достигает центров регуляции секреции гонадотропинов через спинно-мозговую жидкость. О том, что это не единственный механизм торможения секреции гонадотропинов, свидетельствует снижение чувствительности самого гипофиза к действию ГнРГ под влиянием мелатонина.

Кроме торможения секреции гонадотропинов, введение мелатонина снижает продукцию и других гормонов: тиреоидных, надпочечниковых и гормона роста. После пинеалэктомии у молодых животных все эти функции, равно как и митотическая активность клеток гипофиза, усиливаются. Биологическое значение этих явлений остается неизвестным.

Значение для медицины

Амплитуда индуцируемых светом изменений продукции мелатонина (особенно по отношению к активности гонад) у животных, размножающихся сезонно, и у ведущих ночной образ жизни грызунов гораздо выше, чем у человека. Однако и у лю-

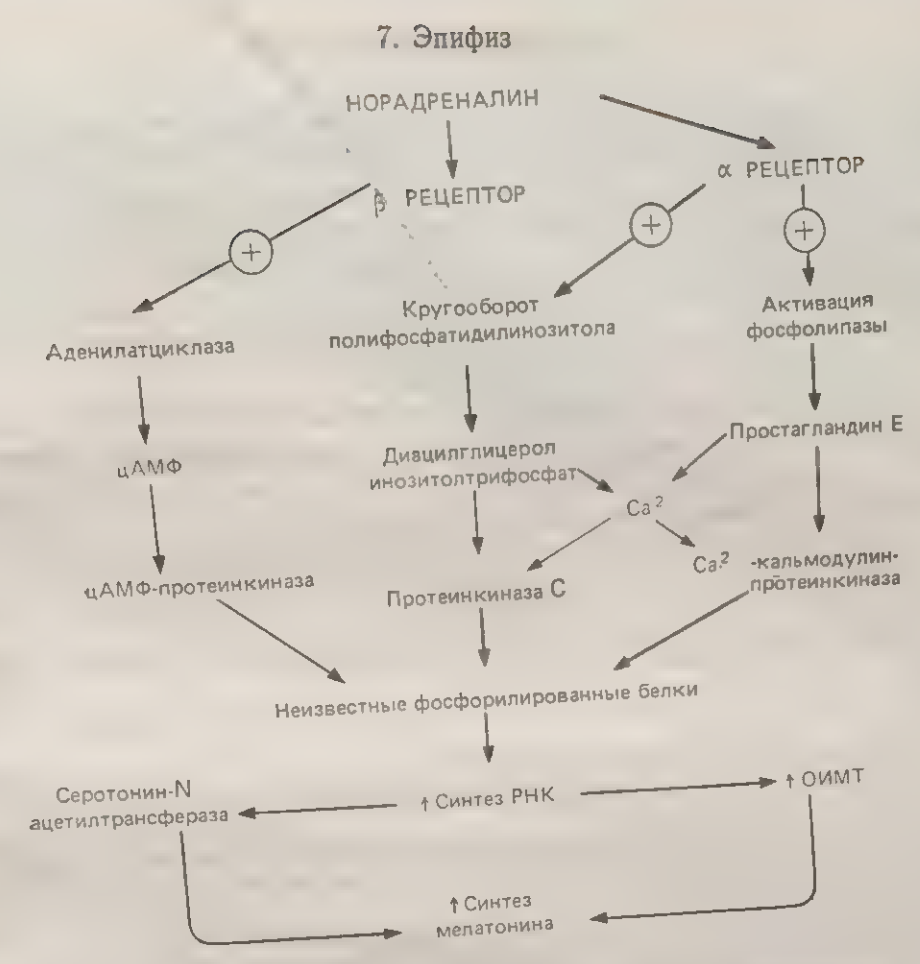


Рис. 7-3. Микрорегуляция синтеза мелатонина в пинеалоците.

дей обнаружены сдвиги циркадианного ритма секреции мелатонина, составляющие компонент реакции на дальние перелеты в широтном направлении, особенно при пересечении на реактивном самолете многих временных поясов. Все же эти изменения трудно интерпретировать, поскольку они связаны не только с изменением ритма освещенности, но и с отсутствием сна.

На роль эпифиза в модуляции половой функции у человека указывает следующий факт: у мальчиков к началу полового созревания происходит резкое падение уровня мелатонина в сыворотке крови. Возможно, это снижение составляет часть сложного сигнала, «запускающего» пубертатный период. У женщин наибольший уровень мелатонина наблюдается в период менструаций, а наименьший — во время овуляции. В эти периоды, естественно, реципрокно меняются уровни эстрогенов (см. гл. 9).

Опухоли эпифиза сопровождаются нарушениями, которые описал Китэй (Kitay) в 1954 г. (см. хронологическую таблицу). Опухоли могут *снижать* половую функцию либо за счет секреции мелатонина, либо за счет сдавления или разрушения нервных клеток или проводящих путей, обеспечивающих секрецию

ГнРГ. С другой стороны, эти и близко расположенные опухоли могут *повышать* половую функцию, разрушая клетки эпифиза. Наконец, в области эпифиза могут располагаться опухоли, возникшие из первичных половых клеток (это заболевание особенно характерно для Японии); некоторые из таких опухолей продуцируют большие количества хорионического гонадотропина. На долю всех типов эпифизарных опухолей приходится от 0,4 до 1% внутричерепных новообразований.

Наконец, нельзя исключить и возможности того, что врачи XVIII в., которые связывали эпифиз с поведенческими сдвигами, не слишком ошибались. Действительно, введение мелатонина человеку вызывает легкую эйфорию и сон.

Литература[1]

Binkley S. A. (1983). Circadian rhythms of pineal function in rats, Endocr. Rev., **4**, 255.
Cardinali D. P. (1981). Melatonin. A mammalian pineal hormone, Endocr. Rev., **2**, 327.
Fèvre-Montange M., Van Cauter E., Refetoff S. et al. (1981). Effects of «jet lag» on hormonal patterns. II. Adaptation of melatonin circadian periodicity. J. Clin. Endocrinol. Metab., **52**, 642.
Kebabian J. W., Zatz M., Romero J. A. (1975). Rapid changes in rat pineal β adrenergic receptor: Alterations in ^{3}H alprenol binding and adenylate cyclase, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **72**, 3735.
Kolata G. (1984). Puberty mystery solved, Science, **223**, 272.
Martin J. E., Klein D. C. (1976). Melatonin inhibition of the neonatal pituitary response to luteinizing hormone releasing factor, Science, **191**, 301.
Preslock J. P. (1984). The pineal gland: Basic implications and clinical correlations, Endocr. Rev., **5**, 282.
Reiter R. J. (1980). The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals, Endocr. Rev., **1**, 109.
Reiter R. J. (ed.) (1984). The Pineal Gland. New York, Raven Press.
Relkin R. (ed.) (1983). The Pineal Gland. New York, Elsevier North-Holland, Inc.
Sugden D., Vanacek J. V., Klein D. C. et al. (1985). Activation of protein kinase C potentiates isoprenaline-induced cyclic AMP accumulation in rat pinealocytes, Nature, **314**, 359.
Tamarkin L., Baird C. J., Almeida O. F. X. (1985). Melatonin: A coordinating signal for reproduction? Science, **227**, 714.

[1] См. примечание на с. 40

Часть IV

ЭНДОКРИНОЛОГИЯ РАЗМНОЖЕНИЯ

Глава 8

Мужской организм

Некоторые хронологические вехи в истории андрологии

Дата		*Источник*
2000 лет до н. э. и позднее	Кастрация в наказание за прелюбодеяние и другие половые преступления	Кодекс Хаммурапи
?	Кастрация в препубертатном периоде с социальными целями (рабов, слуг, служителей гарема, певчих и проч.)	Греческие, китайские, индийские, североафриканские авторы
400 лет до н. э.	Описана анатомия семенников	Аристотель
400 лет до н. э.	Отрицание роли семенников в оплодотворении	Аристотель
XVII в.	Кастрация пленников каннибалами для увеличения массы тела и нежности мяса	Карибские острова, аборигены Бразилии
1667	Обнаружены сперматозоиды («живчики») в семенной жидкости	Левенгук (Leuwenhoek)
1668	Описана анатомия семенников	Де Грааф (De Graaf)
1840	Выявлен процесс созревания сперматозоидов в семенных канальцах вопреки представлениям преформистов	Келликер (Koelliker)
1849	Получено первое доказательство эндокринного эффекта: предотвращена атрофия петушиного гребня путем трансплантации в брюшную полость семенников	Бертольд (Berthold)
1878	Запрещена кастрация церковных певчих (последний кастрированный певчий умер в 1922 г.)	Папа Лев XIII
1889	Сообщено о резком повышении бодрости и либидо после самовведения экстрактов семенников животных (позднее не подтвердилось)	Браун-Секар (Brown-Sequard)

По Bremmer W. J. In: Burger H., de Kretser (eds.) (1981). The Testis, New York, Raven Press.

Эндокринология размножения: популяционный гомеостаз

Читатель, несомненно, знаком с основным понятием *регуляции* применительно к организму человека или животного. Концепция гомеостаза базируется на том, что некий количествен-

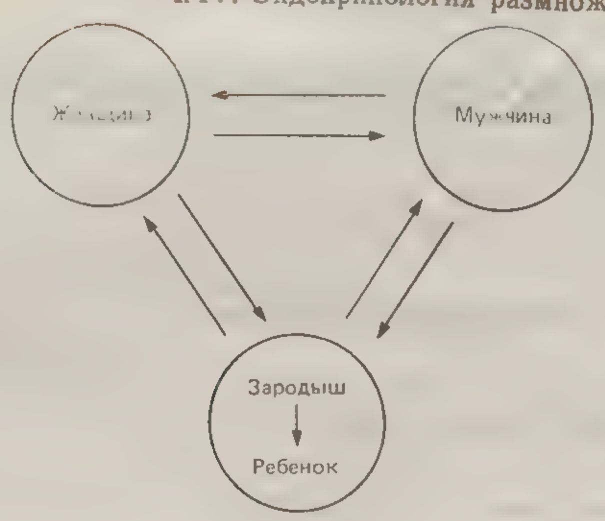


Рис. 8-1. Пример репродуктивной единицы.

ный показатель, будь то уровень глюкозы в крови, содержание кальция в сыворотке, артериальное давление, объем крови и т. п., поддерживается в узких границах «нормы». При отклонении от этого равновесного уровня клетки-«надзиратели» приводят в действие силы, направленные на коррекцию сдвига. Обычно эти силы действуют таким образом, который представляется нам целесообразным для выживания особи. Регуляция этого типа имеет место у отдельно взятых свободно живущих организмов; нарушение регуляторных механизмов наносит им явный ущерб.

Биология *размножения*, важной частью которой является эндокринология, представляет собой качественно иной и более сложный вид гомеостаза, поскольку она имеет дело уже не с отдельными людьми или животными. Половое размножение не является функцией индивидуума, поскольку наименьшая единица, которую можно назвать *репродуктивной*, включает мужскую и женскую особи, а также их потомство (рис. 8-1). Биология полового размножения отличается от биологии особи тем, что у *каждого члена репродуктивной единицы регулируются функции, комплементарные функциям другого или других членов*. Например, гаметогенез происходит у особей и мужского и женского пола. Хотя эти процессы у обоих полов имеют некоторое сходство, они в то же время существенно различаются. Тем не менее они комплементарны, поскольку созревание гамет, анатомические структуры, обеспечивающие их встречу, механизмы имплантации и развития оплодотворенной яйцеклетки — все это совместный вклад всех трех членов репродуктивной единицы в одно общее дело.

По существу эндокринология размножения занимается проблемой продолжения рода и гомеостатическим регулированием

популяций. Внимание человека и общества к вопросам полового размножения наглядно проявляется во всей мировой истории, искусстве и литературе, не говоря уже об экономике, политике и религии. Огромное число людей имеет детей, тогда как другие предпринимают колоссальные усилия для предотвращения деторождения. Изучение биологии размножения создает основу для выяснения причин бесплодия, с одной стороны, и регуляции рождаемости — с другой.

Оплодотворение

Последние достижения Степто и Эдвардса (Steptoe, Edwards) в изучении оплотворения яйцеклетки человека in vitro снова напомнили, что вся репродуктивная биология сводится в конечном счете к оплодотворению яйца сперматозоидом. Гаметогенез у обоих полов, появление и сохранение вторичных половых признаков, комплекс социальных и поведенческих реакций, связанных с размножением, как бы фокусируются в тот момент, когда сперматозоид оплодотворяет яйцеклетку и делает ее непроницаемой для других сперматозоидов.

Хотя сперматозоид отнюдь не гормон, но взаимодействие стимул — реакция при оплодотворении очень сходно с взаимодействием чувствительной клетки-мишени с гормоном. Видовая специфичность оплодотворения обусловлена тем, что в вителлиновую оболочку яйцеклетки встроен молекулярный рецептор, который взаимодействует с белком (так называемым биндином) на поверхности гомологичного сперматозоида. Из оболочки яиц морского ежа удалось выделить гликопротеин, который при добавлении in vitro к суспензии сперматозоидов в присутствии яйцеклетки успешно конкурировал с последней за сперматозоиды и тем самым предотвращал оплодотворение (Lennarz, см. Schmell et al.). Контакт сперматозоида с яйцеклеткой открывает серию реакций, составляющих в совокупности процесс оплодотворения.

«Включение» яйцеклетки сперматозоидом служит прототипом одной из форм стимуляции, а именно *стимуляции путем снятия торможения.* В неоплодотворенной яйцеклетке заключена, по-видимому, готовая программа развития, но реализация ее сдерживается набором гипотетических ингибиторов. Когда сперматозоид взаимодействует с мембраной яйцеклетки, изменяется проницаемость этой мембраны, что приводит к значительным изменениям электролитного состава внутриклеточной жидкости и pH. В этих новых условиях гипотетические ингибиторы теряют свою активность, и яйцеклетка начинает развиваться. В некоторых случаях процесс развития можно инициировать механическим повреждением мембраны или резким из-

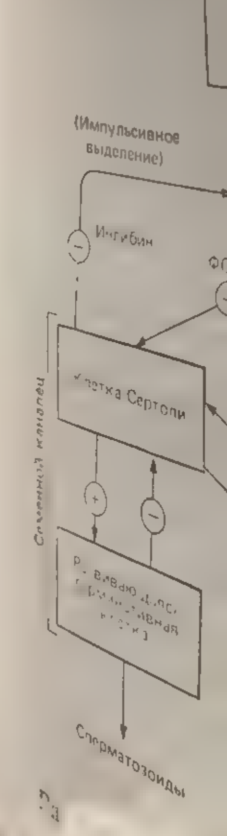
менением внутриклеточной концентрации кальция с помощью кальциевого ионофора A23187.

Эффект взаимодействия между биндином спермы и рецептором яйцеклетки подробно исследовали с помощью сканирующей электронной микроскопии, а также биоэлектрических и биохимических методов. Первым регистрируемым результатом взаимодействия служит небольшой приток ионов натрия в яйцеклетку, происходящий в течение первых двух секунд и проявляющийся в виде потенциала действия. Изменения мембраны, о которых свидетельствует потенциал действия, рассматривают как первоначальную защиту от полиспермии. Далее (8 с) из внутриклеточных депо мобилизуются ионы кальция и спустя 20 с начинается кортикальная реакция — вначале в месте контакта со сперматозоидом, а затем радиально распространяющаяся по всей поверхности клетки. Тысячи кортикальных гранул (около 1 мкм в диаметре каждая) сливаются с плазматической мембраной и выбрасывают свое содержимое в пространство между этой мембраной и вителлиновой оболочкой. Содержимое гранул представлено сложной смесью ферментов, структурных белков, используемых для построения непроницаемой мембраны оплодотворенного яйца, и других неизвестных веществ. Один из ферментов меняет конфигурацию рецепторов биндина на вителлиновой оболочке, благодаря чему имеющиеся в избытке сперматозоиды уже не могут взаимодействовать с яйцеклеткой. Таким образом, выброс содержимого кортикальных гранул создает второй барьер для полиспермии и «запускает» образование *оболочки оплодотворения,* — процесс, завершающийся в течение минуты после прикрепления сперматозоида.

Движение ионов, инициируемое взаимодействием сперматозоид — рецептор, включает приток кальция в клетку (который достигает максимума примерно через 80 с) и большой приток натрия, приводящий к выраженному защелачиванию внутриклеточной среды (достигает максимума примерно на 150-й с). Описанные процессы протекают сходным образом независимо от того, стимулируется ли развитие яйцеклетки сперматозоидом, уколом иглы или кальциевым ионофором. Прекрасное, основанное на междисциплинарном подходе описание этой фундаментальной проблемы биологии можно найти в обзоре Ипла (Epel).

Репродуктивная функция у мужской особи

Семенник представляет собой сложный орган, состоящий из двух основных популяций клеток: 1) клеток Лейдига, синтезирующих и секретирующих в кровь основной андрогенный



гормон — тестостерон, и 2) клеток семенных канальцев, или герминативного эпителия, где происходит гаметогенез. Синтез и секреция тестостерона клетками Лейдига стимулируются гипофизарным ЛГ (лютеинизирующим гормоном), который у особей мужского пола иногда обозначают как ГСИК (гормон, стимулирующий интерстициальные клетки). Стимулирующее действие ЛГ на клетки Лейдига можно воспроизвести хорионическим гонадотропином (ХГ). Нейроэндокринная регуляция размножения схематически изображена на рис. 8-2.

Гаметогенез, или сперматогенез, контролируется тестостероном и гипофизарным ФСГ. Поскольку для поддержания сперматогенеза требуются высокие локальные концентрации тестостерона на периферии семенных канальцев, в данном случае можно говорить о паракринной функции тестостерона, секретируемого соседними клетками Лейдига. Функционирование протоков, по которым новообразованные сперматозоиды должны пройти в семявыбрасывающий проток, тоже требует высокой концентрации андрогенов.

Основные функции андрогенов суммированы в таблице 8-1.

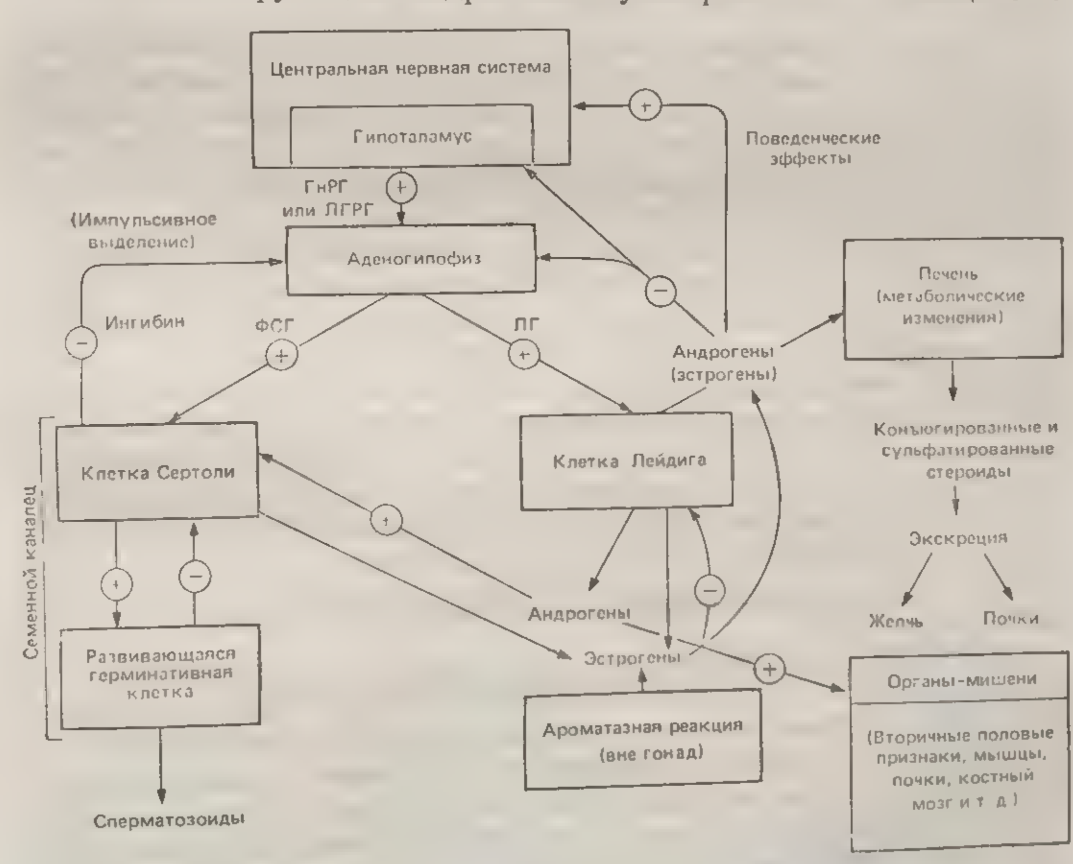


Рис. 8-2. Схема нейроэндокринной регуляции размножения у особей мужского пола (+ — стимуляция; − — торможение).

Таблица 8-1. Основные функции андрогенов

Дифференцировка
Половые железы и протоки
Центральная нервная система
Развитие и сохранение вторичных половых признаков
Наружные половые органы
Акцессорные железы
Тембр голоса
Кожа
Прочие
Анаболический и общие метаболические эффекты
Рост скелета
Рост скелетной мускулатуры
Ренотропные эффекты
Распределение подкожного жира
Гаметогенез (в канальцах под действием ФСГ)
Процессинг незрелых сперматозоидов
Поведенческие эффекты

Половые хромосомы

Половая дифференцировка определяется генетически, а заложенную в геноме соответствующую программу называют *половым генотипом*, или *генетическим полом*. Результат процесса развития обозначают как *половой фенотип*. В большинстве случаев половой генотип и половой фенотип совпадают, но иногда они явно расходятся.

У человека как оогонии, так и сперматогонии содержат по 46 хромосом (44 аутосомы и 2 половые хромосомы). Поэтому набор хромосом в оогониях можно представить как 44 XX, а в сперматогониях — 44 XY. На стадии оогенеза между первичным и вторичным ооцитом число хромосом уменьшается вдвое, и поэтому каждый вторичный ооцит (и, следовательно, каждая яйцеклетка) содержит гаплоидный набор хромосом (22 X). На аналогичной стадии развития сперматозоида образуются два типа вторичных сперматоцитов: 22 X и 22 Y. Поэтому генетический пол (мужской или женский) зависит от того, какой сперматозоид (несущий X- или Y-хромосому) оплодотворит яйцеклетку.

В 1949 г. Барр и Бартрам (Barr, Bartram) обнаружили, что клетки соматических тканей особей женского пола содержат видимые под микроскопом глыбки хроматина (тельца Барра), которые, как считают, образуются вследствие суперспирализации одной из X-хромосом. Поэтому половой генотип можно установить, исследуя соскоб слизистой оболочки внутренней поверхности щеки на тельца Барра. Позднее для выявления половых хромосом стали широко применять методы флуоресцентной микроскопии. Культивирование клеток человека in vitro и

прямое исследование хромосом (определение кариотипа) расширили наши представления о генетических нарушениях. Разработка метода амниоцентеза (изучения клеток амниотической жидкости на 14—16-й нед беременности) позволила выявлять хромосомные нарушения у плода (и попутно определять его пол).

Установлено, что хромосомные нарушения обусловливают ряд патологических состояний. Синдром Дауна (монголоидность) у мужчин и женщин характеризуется присутствием лишней аутосомы и поэтому общее число хромосом в каждой соматической клетке организма составляет 47 вместо 46. Синдром Клайнфельтера (женоподобный мужчина с маленькими семенниками) часто, но не всегда связан с наличием лишней X-хромосомы (XXY) и присутствием телец Барра. (Редко встречаются лица, у которых целых пять X-хромосом, но, поскольку имеется и Y-хромосома, семенники у них развиваются.) Больные с синдромом Тернера (малый рост, аменорея, отсутствие вторичных половых признаков) часто, хотя и не всегда, имеют лишь одну X-хромосому и общее число их — 45.

Генотип XYY встречается у одного на 1000 родившихся мальчиков и почти все такие индивидуумы фенотипически нормальны. Сообщалось, что людей с таким набором хромосом чаще можно выявить среди заключенных, содержащихся в тюрьме для уголовных преступников, однако позднее было установлено, что XYY-индивидуумы среди них составляют не более 1%; т. е. 99% преступников не имеют подобной аномалии. Лица с набором хромосом XYY обычно выше ростом и чаще страдают ярко выраженной угревой сыпью, чем XY-мужчины.

Генотип XXX встречается у одной из 1600 родившихся девочек, и большинство из них фенотипически нормальны. Имеются некоторые данные о том, что у детей этих женщин чаще встречаются хромосомные нарушения, чем у женщин с нормальным генотипом.

Отдельные примеры хромосомных аномалий приведены в табл. 8-2. (Более подробно об этом см. Grumbach, Van Wyk.)

Влияние андрогенов на дифференцировку

Биология развития репродуктивных структур

У млекопитающих зачаточная гонада в отсутствие Y-хромосомы запрограммирована на развитие женского полового тракта (рис. 8-3). Однако при наличии Y-хромосомы у мужского зародыша человека в возрасте около 6 нед начинает развиваться нейтральная гонада. Половая дифференцировка по мужскому типу осуществляется между 6 и 16 нед.

Таблица 8-2. Хромосомные нарушения у человека[1]

Клиническое состояние	Хроматиновые тельца Барра	Половые хромосомы	Число аутосом	Общее число хромосом
Нормальные женщины	1	XX	44	46
Нормальные мужчины	0	XY	44	46
«Сверхженщины»	2	XXX	44	47
Синдром Клайнфельтера (см. текст)	1	XXY	44	47
Синдром Тернера (см. текст)	0	X	44	45
Женщины с синдромом Дауна	1	XX	45	47
Мужчины с синдромом Дауна	0	XY	45	47

[1]) По Barr M. L. (1959). *Science*, 130 : 679.

Образование семенников происходит при участии антигена гистосовместимости Y (H—Y), который представляет собой поверхностный гликопротеин (Ohno, Wachtel). Его синтез прямо или косвенно зависит от активности гена, расположенного на Y-хромосоме. Пока неизвестны другие белки, специфически влияющие на органогенез, и установление функции H—Y-антигена можно считать значительным событием в истории биологии развития. Если клетки семенника на очень ранней стадии его формирования диспергировать с помощью трипсина и лишить H—Y-антигена путем обработки специфическими антителами, то они агрегируют в фолликулярную структуру, типичную для яичника. Если же данные клетки обработать контрольной сывороткой (т. е. сохранить поверхностный H—Y-антиген), то они собираются в тяж, который служит предшественником семенного канальца.

После формирования примитивных семенных канальцев зародышевые клетки, завершившие с помощью псевдоподий свой долгий путь из желточного мешка в урогенитальный гребешок, захватываются агрегирующими пре-сертолиевыми и прелейдиговыми клетками. Таким образом, все клеточные элементы, необходимые для дальнейшего развития семенного канальца, оказываются на своем месте уже на очень ранней стадии эмбриогенеза. Природа хемотаксических сигналов, направляющих миграцию зародышевых клеток точно к тому месту, где они могут включаться в образующийся каналец, неизвестна, но этот феномен аналогичен миграции лейкоцитов к очагу воспаления.

Во время формирования примитивного семенника гипофиз плода еще не продуцирует ЛГ. Однако на зародыши обоего

пола действует ХГ (хорионический гонадотропин) плацентарного происхождения. Новообразованные клетки Лейдига уже содержат рецепторы, способные узнавать и связывать ХГ.

Клетки Сертоли вырабатывают белковое вещество, известное как фактор, ингибирующий мюллеров проток (ФИМ) которое вызывает активную регрессию этого протока. ФИМ представляет собой белок с мол. массой 30 000. Описаны редкие случаи сохранения у мужчин структур мюллерова протока при нормально развитой репродуктивной системе. Считают, что в таких случаях имеет место генетический дефект, обусловливающий либо отсутствие, либо недостаточность ФИМ.

ХГ стимулирует клетки Лейдига к продукции тестостерона, принимающего прямое или косвенное участие в развитии других структур мужского полового тракта. Вильсон (Wilson) и др.

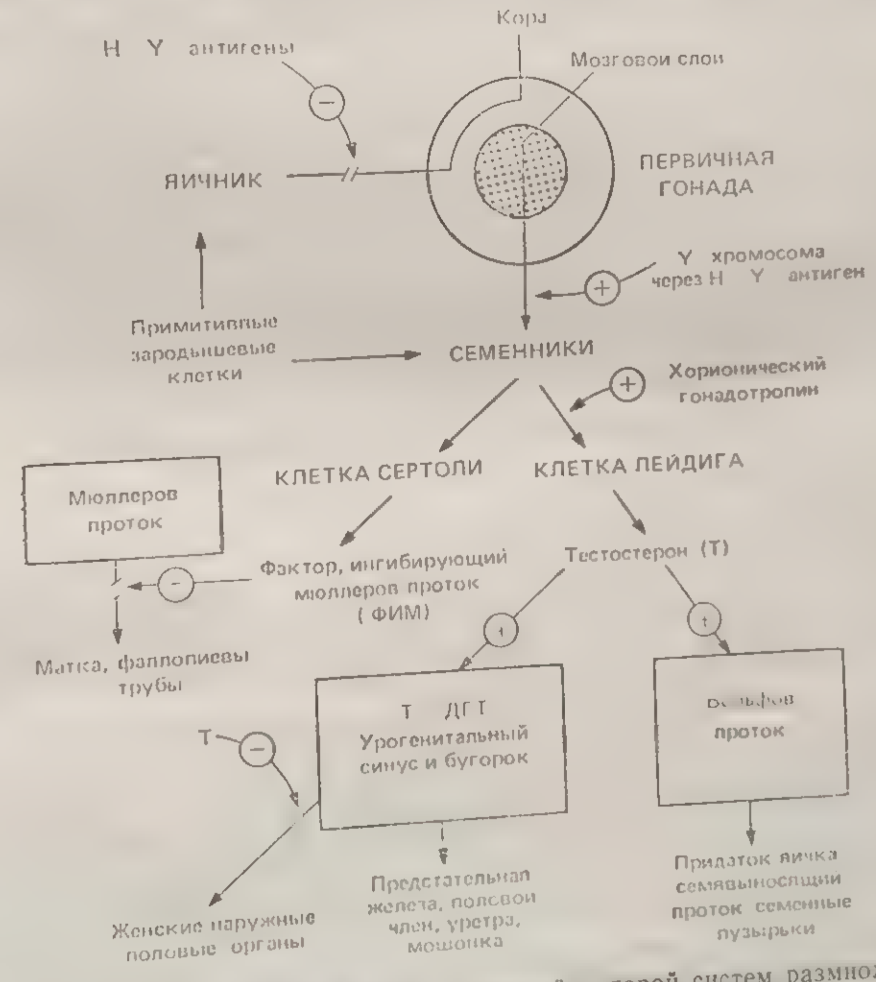


Рис. 8-3. Дифференцировка мужской и женской половой систем размножения. ДГТ — дигидротестостерон. (Ссылки на оригинальные данные, положенные в основу этой схемы, см. Wilson J. D. (1978). Ann Rev. Physiol, 40. 279; Ohno S. (1978). JAMA, 239, 217.)

(см. обзор) обнаружили, что именно тестостерон стимулирует развитие системы вольфова протока. Этот проток является предшественником придатка семенника, семявыносящего протока и семенных пузырьков. Однако структуры, образующиеся из урогенитального синуса и бугорка — предстательная железа, половой член, две наружных трети уретры и мошонка — не могут полностью формироваться без дигидротестостерона (см. ниже).

Нарушения развития репродуктивного тракта могут быть связаны либо с врожденными дефектами метаболизма, либо с приемом андрогенных стероидов беременными женщинами в критический период формирования этого тракта у плода. Генетические нарушения продукции стероидов надпочечниками (см. гл. 11) могут точно так же обусловить рождение девочек с адреногенитальным синдромом, как и прием их матерями в период беременности прогестинов с андрогенной активностью.

Один из наиболее интересных примеров нарушений развития у мальчиков обнаружен (см. Peterson et al.) среди кровных родственников в Доминиканской Республике. Описано большое число мальчиков с препубертатной недостаточностью фермента 5α-редуктазы, катализирующей превращение тестостерона в дигидротестостерон. Эти индивидуумы, будучи генетически мужчинами, имеют типично женский фенотип и женские гениталии, хотя структуры, развивающиеся из вольфова протока, у них обычны, поскольку нормален уровень тестостерона. Ко времени полового созревания происходит индукция 5α-редуктазы, и такие дети приобретают мужской фенотип.

Роль андрогенов в дифференцировке ЦНС

Между формированием половой системы и мозга существует аналогия: в обоих случаях в отсутствие андрогенов развитие протекает по женскому типу. Однако в присутствии андрогенов развитие идет по мужскому типу. Говоря о женском и мужском типе развития мозга, мы имеем в виду *те мозговые структуры, которые связаны с регуляцией секреции гипофизарных гонадотропинов и полового поведения.*

В 1936 г. Пфейфер (Pfeiffer) трансплантировал гонады новорожденных самцов крыс новорожденным самкам и обнаружил, что впоследствии у взрослых самок отсутствует эстральный цикл, хотя ороговение влагалища указывало на сохранившийся у них высокий уровень эстрогенов. В 1954 г. Барраклаф (Barraclough) и др. показали, что однократная инъекция андрогенов новорожденным самкам крыс между вторым и пятым днем жизни обусловливает стерильность взрослых самок; их яичники содержат множество фолликулов, но желтые тела отсутствуют. При пересадке таких яичников здоровым самкам желтые тела формируются нормально. Таким образом, введенный но-

ворожденным животным тестостерон не затрагивает функционирование яичников.

В настоящее время считается, что андрогены влияют на те участки мозга, которые связаны с циклической регуляцией секреции ГнРГ и поведения. Эти гормоны могут нарушать работу биологических часов, которая контролируется преоптической областью гипоталамуса.

Имеются и надежные морфологические данные, подтверждающие представления о пластичности гипоталамуса новорожденных животных. Рейсман и Филд (Raisman, Field) показали, что у нормальных самок крыс определенная популяция синапсов (вне миндалины) на дендритных шипиках преоптической области больше, чем у самцов. Более того, оказалось, что введение андрогенов новорожденным самкам придает этой области морфологию, характерную для самцов, тогда как кастрация самцов в первые 12 ч после рождения приводит к развитию нейронов женского типа. Таким образом, в настоящее время имеются эндокринологические, поведенческие и морфологические доказательства участия андрогенов в дифференцировке мозга.

Данные о том, что большие количества эстрогенов воспроизводят у новорожденных самцов маскулинизирующие эффекты андрогенов на развитие «гонадостата», не поддавались объяснению до тех пор, пока Райан и др. (Ryan et al.) не обнаружили ароматизацию тестостерона (т. е. образование эстрогена из тестостерона) в гипоталамусе. В настоящее время полагают, что некоторые функции тестостерона в ЦНС (особенно те, которые имеют отношение к поведению и функциональной дифференцировке гонадостата) осуществляются не самим тестостероном, а эстрогеном, образующимся из него в специфических нейронах. Дигидротестостерон (ДГТ) (см. ниже), не подвергающийся ароматизации, не воспроизводит описанных выше эффектов тестостерона или эстрогена в опытах по развитию гонадостата и не восстанавливает вызываемые кастрацией нарушения полового поведения. Эмбрионы обоего пола защищены от высокого уровня эстрогенов в крови матери *α-фетопротеином,* эффективно связывающим эти стероиды.

Все перечисленные эксперименты выполнены на крысах, т. е. на том виде животных, которые к рождению оказываются менее зрелыми, чем приматы, в том числе человек. Поэтому применимость полученных результатов к человеку остается неизвестной. Однако Гой и Феникс (Goy, Phenix) описали поведенческие сдвиги у самок обезьян, которым пренатально вводили андрогены.

Представление о возможности неонатальной модификации гипоталамических «гормоностатов» было распространено на щитовидную железу и надпочечники.

Холестерол

Прогестерон

Тестостерон (Т

Ароматаза

Эстрадиол

5α – редуктаза

Дигидротестостерон (ДГТ)

Андростандиол

Рис. 8-4. Связь тестостерона с другими стероидами. (У человека синтез идет преимущественно через прегненолон, как показано слева на рис. 8-5.)

Химия и метаболизм андрогенов и близких соединений

Основным гормональным продуктом клеток Лейдига является тестостерон (рис. 8-4), который у человека синтезируется со скоростью 7 мг/сут. В липидных каплях клеток Лейдига хранится основной предшественник тестостерона — эфир холестерола. Общая схема биосинтеза тестостерона представлена на рис. 8-5. (Более подробно биосинтез стероидных гормонов описан в гл. 11.) Семенники вырабатывают и секретируют очень небольшое количество и 5α-дигидротестостерона, но его источником являются клетки Сертоли.

Синтез тестостерона стимулируется гипофизарным ЛГ (ГСИК) или — у развивающегося мужского плода — ХГ. Биологический эффект этих гормонов опосредован системой цАМФ. Рецепторы ЛГ или ХГ на плазматической мембране клеток Лейдига связывают гормон столь эффективно, что их можно использовать для высокочувствительного радиолигандного метода оп-

ределения гонадотропинов. В механизме действия ЛГ и ХГ проявляется феномен резервных рецепторов, поскольку максимальная продукция тестостерона регистрируется при занятости лишь небольшого процента рецепторов. Стероидогенез происходит и в том случае, когда не удается зарегистрировать повышения концентрации цАМФ. Однако при оценке внутриклеточного числа участков связывания цАМФ можно убедиться, что дозы ЛГ, эффективно стимулирующие стероидогенез, активируют и цАМФ-зависимую протеинкиназу (см. Dufau et al.).

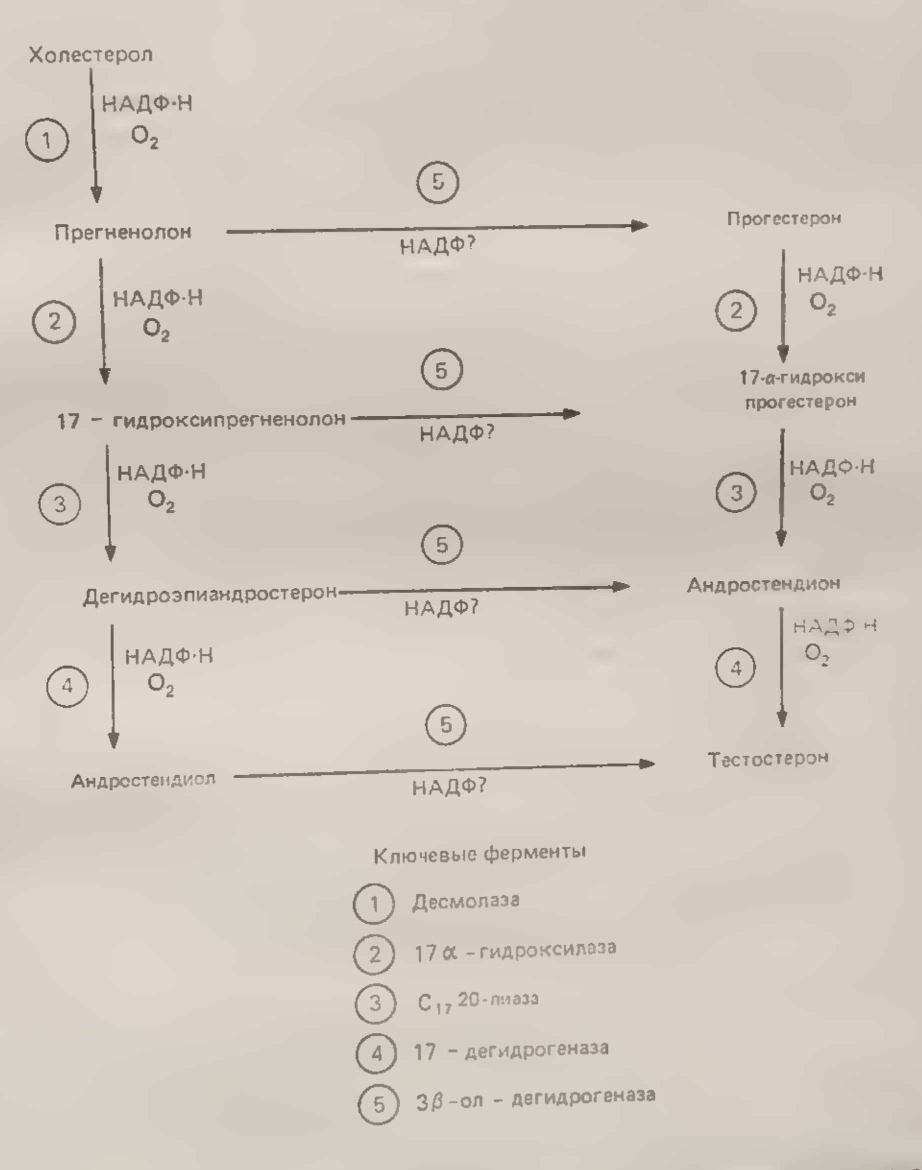


Рис. 8-5. Метаболические пути превращения холестерола в тестостерон. НАДФ — никотинамидадениндинуклеотидфосфат; НАДФ·Н — восстановленный НАДФ.

Активирующее киназу действие ЛГ полностью аналогично механизму стимуляции синтеза глюкокортикоидов надпочечников под влиянием АКТГ, что подробнее рассматривается в гл. 11. Как и другие стероид-продуцирующие клетки, клетки Лейдига запасают исходный предшественник гормона в форме эфиров холестерола, и превращение предшественника в конечный секретируемый гормон происходит очень быстро. Кроме тестостерона семенники вырабатывают и секретируют небольшие количества эстрогенов.

Клетки Сертоли, стимулируемые ФСГ, в свою очередь способны образовывать эстрогены из андрогенов в результате ароматазной реакции. Продукция эстрогенов в самих семенниках ингибирует продукцию андрогенов либо аутокринным (клетки Лейдига), либо паракринным (клетки Сертоли→клетки Лейдига) путем. Эстрогены, образующиеся в семенниках, могут принимать участие и в торможении секреции гонадотропинов по механизму обратной связи.

Лишь небольшая часть эстрогенов, циркулирующих в крови мужчин, секретируется семенниками. Основное их количество образуется в результате метаболизма андрогенов, попадающих в кровь из семенников и надпочечников. Ароматизация стероидов с образованием эстрогенов обнаружена не только в гонадах, но и в других тканях, в том числе жировой.

Подобно другим жирорастворимым гормонам, тестостерон переносится в крови специальным транспортным белком, синтезируемым в печени, который называют глобулином, связывающим стероидные гормоны, или иногда тестостерон-эстрадиол-связывающим глобулином. Это тот же самый белок, который переносит эстрогены, и связанный с ним стероид биологически неактивен. Сродство тестостерона к связывающему глобулину и альбумину в целом таково, что на долю свободной, или биологически активной, формы гормона приходится менее 3% его общего содержания в крови. Регуляция уровня связывающего глобулина в крови представляет определенный практический интерес, поскольку может иметь место как повышение общего количества переносчика (например, под влиянием эстрогенов), так и его снижение (под влиянием андрогенов). В любом случае суммарная концентрация гормона может не точно отражать уровень свободного гормона.

Для определения андрогенов применяются крайне чувствительные биологические, химические и радиолигандные методы, в частности радиоиммунологические. Поскольку концетрация тестостерона в сыворотке крови колеблется в пределах 20%, причем максимальная регистрируется в утренние часы, и поскольку секреция андрогенов в ответ на импульсную секрецию гонадотропина является эпизодической, немаловажное значе-

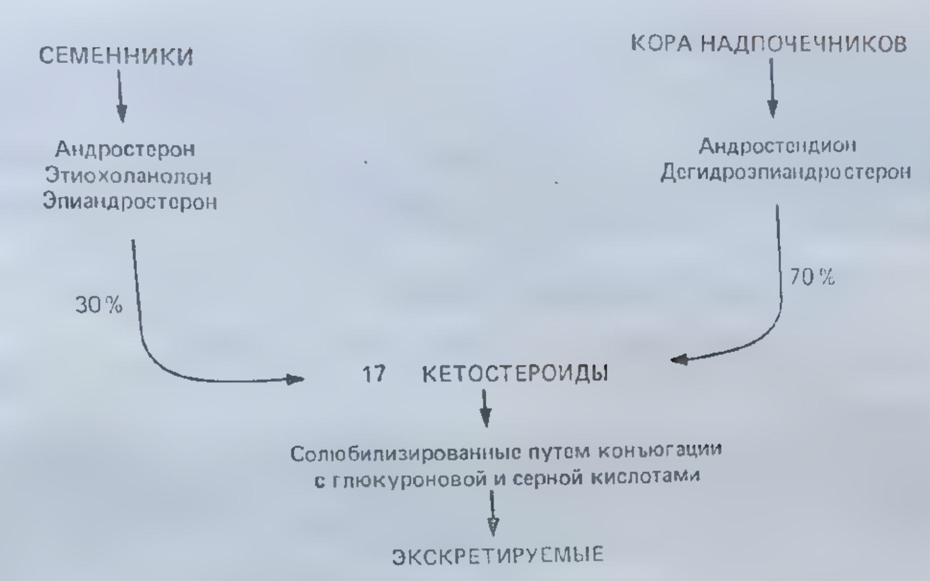


Рис. 8-6. Источники 17-кетостероидов. (Указан процент от общих 17-КС.)

ние может иметь определение экскретируемых с мочой метаболитов тестостерона за определенный промежуток времени. Результаты такого исследования можно рассматривать как один из интегральных показателей секреции стероидов.

Тестостерон в процессе метаболизма (главным образом в печени) превращается в соединения с меньшей андрогенной активностью или вообще лишенные ее. Эти соединения выводятся с мочой в виде 17-кетостероидов (17-КС). На рис. 8-6 показаны источники 17-КС и подчеркивается, что только около 30% экскретируемых 17-КС имеют тестикулярное происхождение. Это не означает, однако, что женщины, у которых экскреция 17-КС всего на 30% меньше, чем у мужчин, только на треть меньше подвергаются воздействию андрогенов. Основным стероидом надпочечникового происхождения, относящимся к 17-КС, является очень слабый андроген — дегидроэпиандростерон. Концентрация тестостерона в плазме крови, которая наилучшим образом отражает уровень биологически активных андрогенов, у мужчин составляет 0,73 мкг/100 мл, а у женщин — 0,037 мкг/ /100 мл.

Синтетические аналоги тестостерона

Тестостерон быстро инактивируется в печени и поэтому имеет ограниченное значение в качестве перорального средства заместительной терапии при состояниях, связанных с его недостаточностью. На рис. 8-7 приведены примеры многих аналогов тестостерона и прогестерона, синтезированных для специальных целей. Эфиры тестостерона (например, показанный на рисунке

пропионат) после инъекции рассасываются медленее и поэтому обладают более длительным биологическим действием, чем нативный гормон. Однако соединения этого типа все равно приходится назначать в форме подкожно имплантируемых пилюль. 17-метиловый эфир тестостерона устойчив к инактивации и может назначаться перорально. К его недостаткам относится то, что он иногда вызывает холестаз и желтуху. Для заместительной терапии лучше использовать парентерально вводимые эфиры тестостерона.

Анаболические стероиды будут рассмотрены вместе с эффектами андрогенов.

Антиандрогены, из которых два соединения показаны на рис. 8-7, способны связываться с рецепторами андрогенов, препятствуя тем самым связыванию природных гормонов. Однако при этом антиандрогены не инициируют биологической реакции. Такие вещества полезны для выяснения значения андроге-

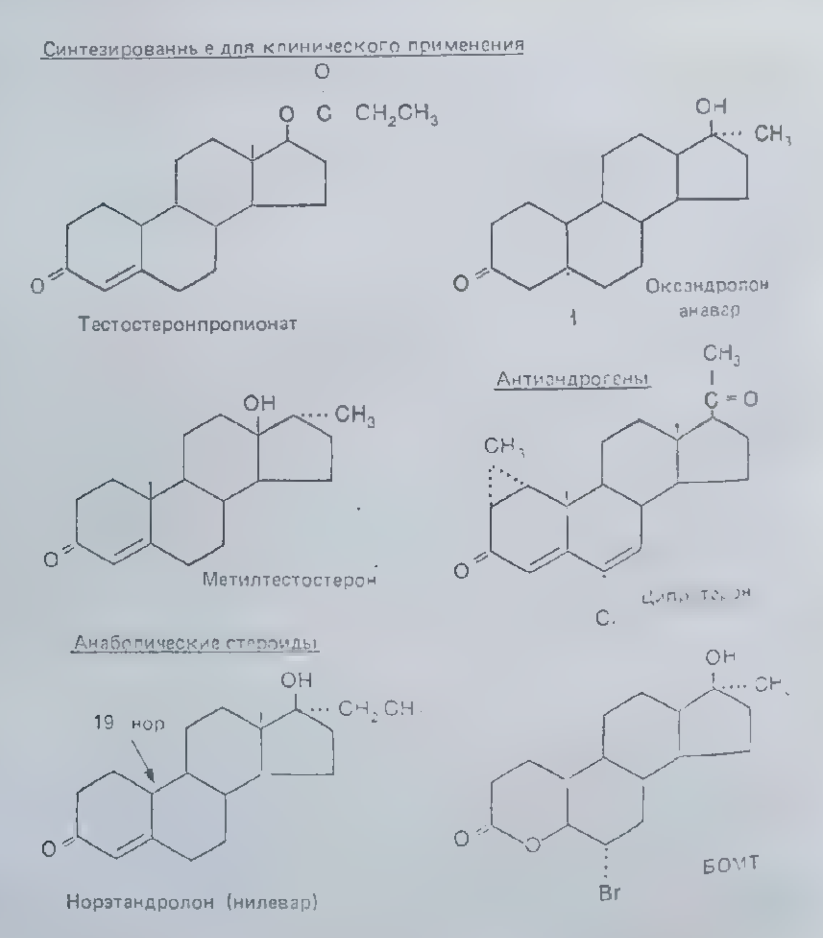


Рис. 8-7. Синтетические андрогены и антиандрогены.

нов в том или ином физиологическом процессе. Они и применялись именно для изучения роли андрогенов в дифференцировке половой системы у плодов мужского пола. Если процесс блокируется антиандрогенами, можно считать, что андрогены принимают в нем участие. Такой подход аналогичен блокаде гормональных эффектов ингибиторами синтеза белка и ДНК.

Тестостерон: гормон или прогормон?

Тот факт, что введенный ^3H-тестостерон обнаруживается в клеточных ядрах в основном в виде *дигидротестостерона* (см. Wilson), положил начало многочисленным исследованиям, показавшим, что в андроген-зависимых тканях тестостерон главным образом действует в виде своего 5α-восстановленного производного — ДГТ (см. рис. 8-4). У здоровых особей мужского пола концентрация ДГТ в крови достаточно низкая: он образуется из циркулирующего тестостерона прямо в чувствительных клетках. При испытании на андрогенную активность (увеличение массы предстательной железы или семенных пузырьков) у кастрированных самцов крыс ДГТ оказался вдвое активнее тестостерона. Он обладает и бо́льшим сродством к глобулину, связывающему стероидные гормоны. Роль ДГТ в развитии мужской половой системы уже упоминалась. Все эти факты служат примером активации гормона тканями-мишенями. В качестве другого примера можно привести витамин D; его предшественник холекальциферол последовательно активируется печенью и почками, превращаясь в 1,25-дигидроксихолекальциферол, который затем действует на кишечник, кость и почечные канальцы.

Второй путь метаболизма тестостерона сводится к его ароматизации с образованием эстрогена (см. рис. 8-4). Это весьма важная реакция, особенно для клеток ЦНС, принимающих участие в гормональной регуляции полового поведения, и их дифференцировки.

Сведения о действии каких-либо метаболитов тестостерона на скелетные мышцы и кости отсутствуют. Как уже отмечалось, тестостерон влияет на дифференцировку ряда структур мужского мочеполового тракта (см. рис. 8-3). Однако, после того как дифференцировка этих структур полностью завершается, тестостерон действует в виде дигидротестостерона.

У некоторых видов животных 5β-производные тестостерона стимулируют образование эритроцитов.

Таким образом, суммарный биологический эффект тестостерона определяется не только им самим, но и целым семейством его метаболитов. Схема этой концепции представлена на рис. 8-8.

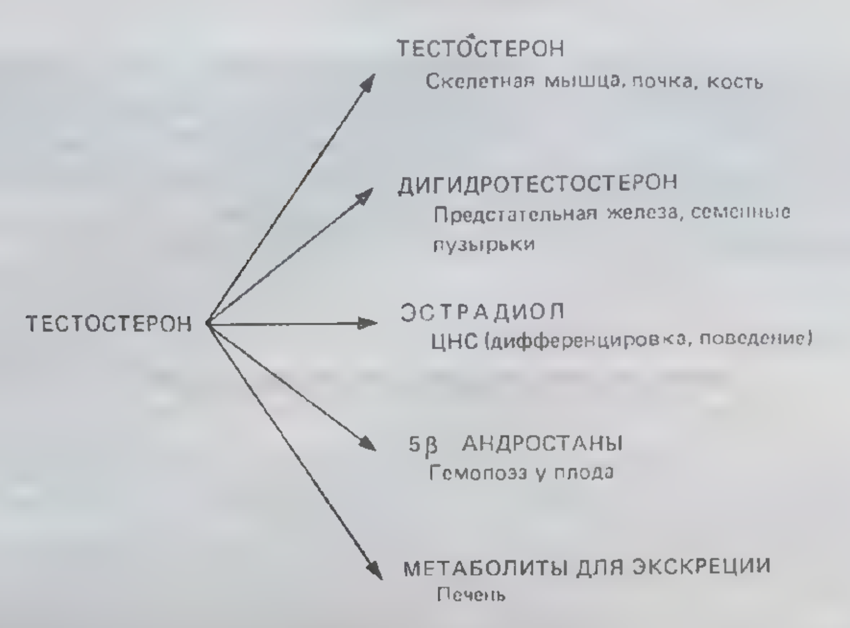


Рис. 8-8. Тестостерон и его метаболиты. На мышцы, почки и кости тестостерон может влиять косвенно.

Функции семенников в различные возрастные периоды

Младенчество

Концентрация тестостерона в периферической крови новорожденных мальчиков выше, чем у девочек. Однако в конце первой недели жизни этот гормон практически не обнаруживается в крови детей обоего пола. С 1 до 4—7 мес у здоровых мальчиков наблюдается существенное повышение содержания тестостерона, достигающего примерно половины его уровня у взрослых мужчин. В это время высок и уровень ЛГ. В возрасте 6—7 мес концентрации ЛГ и тестостерона вновь незначительно падают и не возрастают уже вплоть до пубертатного периода. Повышение уровня гормонов в первое полугодие жизни известно под названием инфантильного выброса тестостерона; его биологическое значение не ясно. Не исключено, что в этот период происходит некий важный импринтинг.

Пубертатный период

С 6—10 лет начинается медленное, но существенное повышение уровней ФСГ и ЛГ, причем увеличение концентрации ФСГ происходит быстрее. Средние размеры семенников не-

сколько возрастают, но концентрация тестостерона в плазме не изменяется. Гонадостат «настроен» таким образом, что обладает крайне высокой чувствительностью к торможению по механизму обратной связи даже очень малыми концентрациями стероидов в крови мальчиков в препубертатном периоде.

В возрасте 10—17 лет содержание ФСГ продолжает медленно увеличиваться и достигает «взрослого» уровня в среднем к 15 годам. Концентрация ЛГ в этот период растет быстрее и достигает «взрослой» нормы к 17 годам. Как у юношей, так и у девушек наблюдаются крайне высокие, связанные со сном «всплески» секреции гонадотропинов, которая в дневное время снижается все в большей степени, пока в конце пубертатного периода, оставаясь эпизодической, все же утрачивает цикличность, связанную со сном и бодрствованием, а концентрация гонадотропинов достигает «взрослого» уровня. Связанные со сном всплески секреции гонадотропинов характерны и для других гипофизарных гормонов, чья концентрация в крови подвержена суточным колебаниям. Разница заключается в том, что связанная со сном секреция ГР, АКТГ и ПРЛ (пролактина) сохраняется на протяжении всей жизни, а высокие ночные пики секреции гонадотропинов после завершения пубертатного периода исчезают.

Механизм повышения секреции гонадотропинов в период полового созревания неясен. Обычно это объясняют перенастройкой «гонадостата» в мозге таким образом, что он становится менее чувствительным к торможению по принципу обратной связи и поэтому способен поддерживать высокую секрецию ГнРГ, несмотря на достижение «взрослой» концентрации половых стероидов в крови. Повышение секреции ГнРГ в пубертатный период сопровождается увеличением чувствительности гонадотрофов к ГнРГ и клеток Лейдига к ЛГ.

Торможение секреции гонадотропинов по механизму обратной связи осуществляется на уровне гипоталамуса и гипофиза. Тормозящим действием обладают тестостерон (превращающийся в мозге в эстрадиол), эстрадиол тестикулярного происхождения и ДГТ. Последний уменьшает частоту, а эстрадиол — амплитуду импульсов секреции ГнРГ.

Рецепторы ЛГ подвергаются повышающей регуляции в незрелых семенниках и снижающей — в зрелых. С другой стороны, эстрадиол уменьшает ответную реакцию (образование стероидов) на ЛГ в зрелых семенниках, но не оказывает подобного действия на незрелые. Таким образом, клетки Лейдига, подобно клеткам Сертоли, обладают своим собственным жизненным циклом.

Примерно за два года до повторной активации системы гипофиз — гонады у лиц обоего пола возрастает секреция андро-

Таблица 8-3. Последовательность событий, происходящих в начале пубертатного периода у мальчиков[1]

1. Снижение продукции мелатонина эпифизом.
2. Снижение чувствительности гонадостата к торможению по принципу обратной связи.
3. Повышение секреции ГнРГ: увеличение амплитуды импульсов секреции ЛГ во время сна.
4. Повышение чувствительности клеток гипофиза к ГнРГ.
5. Увеличение отношения ЛГ/ФСГ в ответ на ГнРГ.
6. Повышение чувствительности клеток Лейдига к ЛГ: повышение синтеза тестостерона.
7. Прекращение деления, активация клеток Сертоли.
8. Последовательное развитие семенников, появление волос на лобке, увеличение полового члена, снижение тембра голоса, быстрый рост.
9. Стимуляция деления сперматогониев и продукции зрелых сперматозоидов.

[1]) По Grumbach M. M. (1983). Excerpta Med., 598, 3.

генов, вырабатываемых надпочечниками. Значение этого процесса для начала полового созревания неясно. В табл. 8-3 суммирована последовательность событий, происходящих в начале пубертатного периода у мальчиков.

Система гипофиз — гонады у пожилых мужчин

Очевидные изменения, сопровождающие менопаузу у женщин, и появляющиеся изредка сообщения о рождении детей у девяностолетних старцев способствовали возникновению неверных представлений о том, что у мужчин половая функция с возрастом не угасает. Позднее, однако, многие исследователи (например, Baker et al.) показали, что спустя некоторое время после 40 лет у большинства мужчин наблюдается постепенное снижение половой функции. Эти изменения менее наглядны, чем у женщин, и у разных мужчин сильно варьируют по скорости и степени развития.

На основании многочисленных публикаций можно сделать вывод о том, что с возрастом у мужчин уменьшается концентрация суммарного и свободного тестостерона и ДГТ в плазме крови, тогда как содержание ФСГ и ЛГ медленно нарастает. Увеличивается и уровень глобулина, связывающего стероидные гормоны, что иногда приводит к более высокому отношению свободных эстрогенов к тестостерону, чем у молодых мужчин. Образование ФСГ в ответ на действие ГнРГ усиливается, указывая на возможную недостаточность ингибина. Может иметь место некоторое уменьшение размеров семенников, постепенно снижается либидо. Хотя эти данные не обязательно указывают

на климактерические изменения, они свидетельствуют о том, что мужские гонады, подобно яичникам, подвергаются старению.

Биологическое действие пролактина у особей мужского пола

Концентрация ПРЛ в крови мужчин лишь ненамного ниже, чем у женщин. Андрогенная недостаточность приводит к снижению уровня ПРЛ в плазме, а заместительная терапия андрогенами восстанавливает его до нормы.

Сам по себе ПРЛ не оказывает заметного влияния на мужскую половую систему. Однако на плазматической мембране клеток Лейдига обнаружены рецепторы ПРЛ, и он значительно усиливает действие ЛГ на стероидогенез в клетках Лейдига. У мышей карликовой линии образуется мало ПРЛ из-за отсутствия ацидофильных клеток в гипофизе, и поэтому введение им чистого ПРЛ стимулирует выработку подвижных сперматозоидов и существенно увеличивает плодовитость.

В то же время считается, что пролактин увеличивает количество рецепторов андрогенов в тканях предстательной железы и семенных пузырьков и тем самым повышает их чувствительность к этим гормонам.

С другой стороны, *гиперпролактинемия* у самцов крыс сопровождается атрофией семенников и *снижением* концентрации тестостерона в крови. У мужчин с ПРЛ-продуцирующими опухолями наблюдаются отчетливые поведенческие сдвиги: они становятся импотентами, несмотря на нормальную концентрацию тестостерона в крови. Удаление опухоли или подавление ее секреторной активности бромкриптином приводит к восстановлению потенции. Следует отметить, что ПРЛ влияет на поведенческие реакции животных, например на материнский инстинкт и устройство гнезда. Создается впечатление, что ПРЛ, продуцируемый опухолями гипофиза, может достигать тех областей мозга, которые связаны с регуляцией сексуального поведения.

Дефицит андрогенов и заместительная терапия

Физиологические эффекты андрогенов можно оценить, изучая изменения, возникающие при их отсутствии или происходящие на протяжении периода полового созревания у мальчиков. Помимо своего участия в эмбриогенезе андрогены существенно влияют на развитие *первичных* и *вторичных половых признаков, костей, скелетной мускулатуры*, на *водный баланс* и *пове-*

дение. Во всех случаях необходимо различать последствия кастрации до и после пубертатного периода, поскольку при первой не развиваются ни физиологические, ни поведенческие особенности мужского пола. Кастрация после завершения полового созревания, с другой стороны, необязательно вызывает регрессию уже сформированных андроген-зависимых тканей. Поведенческие сдвиги будут рассмотрены ниже.

Первичными половыми *структурами* являются сами гонады, связанные с ними железы и протоки, в совокупности образующие систему продукции и транспортировки мужских зародышевых клеток. Рост, развитие и сохранение всех компонентов этой системы абсолютно зависят от андрогенов. Эту зависимость легче всего наблюдать при определении андрогенов биологическими методами, когда масса пустых семенных пузырьков или вентральной простаты очень точно отражает интенсивность получаемого этими структурами андрогенного стимула. При гистологическом исследовании цилиндрические эпителиальные клетки, выстилающие семенные пузырьки, после кастрации оказываются уплощенными, теряют характерную базофильную зернистость и цитоплазматические органеллы. Из ядер исчезают ядрышки и клетки утрачивают большинство ферментов. При заместительной андрогенной терапии становится отчетливо видно ядрышко, вновь появляются клеточные органеллы и базофилия, а высота цилиндрических клеток отражает дозу вводимых андрогенов. Активность специфических для данных клеток ферментов восстанавливается до нормы. Гениталии после препубертатной кастрации или при андрогенной недостаточности теряют способность к развитию, хотя после постпубертатной кастрации могут оставаться нормальными.

Вторичные половые признаки, как отмечал еще Чарлз Дарвин более 100 лет назад, у животных некоторых видов более ярко выражены, чем у человека. Рога оленя, петушиный гребень, павлиньи перья, половая кожа приматов, запах козла и характерное пение птиц — все это примеры зрительных, обонятельных, тактильных и слуховых воздействий, привлекающих самку к самцу. Здесь нет необходимости подробно говорить о том, что отношения между мужчиной и женщиной гораздо сложнее, чем даже самые красочные ритуалы «ухаживания» животных. В арсенале человека бесконечное количество нюансов — от выражения лица до поэзии Шекспира; глубокое влияние оказывают социальные обычаи и культура.

Недостаточность андрогенов вызывает резкие изменения в строении и распределении *волос на теле*. У людей, кастрированных в препубертатном периоде, не растут борода и усы, а также регрессируют и истончаются волосы на теле. Распределение и текстура волос определяются в основном наследственностью.

Мужчины некоторых национальностей с несомненной вирильностью и доказанной способностью к деторождению лишены бороды и усов и имеют лишь минимальное количество волос на теле. В этих случаях (поскольку здесь нет явного дефицита андрогенов) можно предположить генетически обусловленное нарушение реакции волосяных фолликулов на андрогены.

Обычное двустороннее облысение тоже определяется генетически, но не развивается у евнухоидных мужчин. У некоторых людей, наследственно предрасположенных к облысению, оно возникает только после введения заместительных доз андрогенов. В этом случае андрогены необходимы для *потери волос*. Механизм подобного эффекта неизвестен.

Андрогены обладают стимулирующим действием на *сальные железы*, и поэтому в пубертатном периоде и при лечебном назначении гормонов может отмечаться повышенная жирность кожи. Патологические угри (acne vulgaris) — многочисленные инфицированные сальные железы — не встречаются ни у кастратов, ни у евнухоидных мужчин, ни у детей препубертатного возраста. С другой стороны, они очень часто возникают у подростков обоего пола и могут появиться у больных, получающих андрогены или проандрогены, такие, как кортизол. Нередко угри наблюдаются у женщин в менопаузе, когда секреция андрогенов и эстрогенов может снижаться неравномерно и временно преобладают андрогены.

Андрогены влияют на *пигментацию кожи*. Кожа кастрированных евнухоидных мужчин мягкая, имеет бледно-желтый цвет и отличается очень тонкими морщинками, особенно в уголках глаз. Она плохо загорает на солнце, но приобретает эту способность при введении андрогенов.

Тембр голоса — хорошо известный вторичный половой признак. Введение андрогенов евнухоидным мужчинам или женщинам приводит к снижению тембра голоса и появлению некоторой хрипоты.

Общие метаболические последствия дефицита андрогенов и их заместительного введения трудно отграничить от изменений вторичных половых признаков. Например, у евнухоидных мужчин часто наблюдается типично женское распределение подкожного жира, особенно в области бедер и нижней части живота. И наоборот, у женщин, вирилизация которых обусловлена диффузной гиперплазией надпочечников, не отмечено подобного распределения. Хотя имеются некоторые сомнения относительно роли андрогенов в женском типе распределения жира у евнухоидных мужчин, зато несомненно, что успешное лечение надпочечникового вирилизма у женщин заместительными дозами кортизола приводит к появлению типично женских жировых отложений (см. гл. 11).

Андрогены оказывают сложное влияние на *рост скелета.* Мальчики препубертатного возраста с недостаточностью андрогенов часто отличаются высоким ростом, что указывает на незаращение эпифизов и чрезмерный рост длинных костей. Однако бурный рост мальчиков в отрочестве отчасти обусловлен и косвенным действием андрогенов, которые стимулируют синтез и секрецию гипофизарного гормона роста. Рост скелета контролируется комплексом пищевых, генетических и гормональных факторов, и наличие или избыток андрогенов — лишь один из них; чрезмерная андрогенизация в препубертатном периоде может приводить к преждевременному заращению эпифизов и низкорослости.

Суммарная *масса поперечнополосатой мускулатуры* у кастрированных и евнухоидных мужчин меньше нормальной, а при введении андрогенов происходит увеличение мышечной силы. Как отмечали еще античные скульпторы, для мужской фигуры характерна рельефность мышц, тогда как у женщин они должны быть скрыты слоем подкожного жира. Лечение андрогенами или неадекватная андрогенизация у женщин усиливает рельефность мускулатуры.

В основе кожных, костных и мышечных эффектов андрогенов может лежать один и тот же фактор — *генерализованное анаболическое действие* этих соединений *на белковый обмен.* Во многих балансовых экспериментах было показано, что андрогены вызывают задержку азота, калия и фосфора, а также увеличивают общую массу скелетных мышц. Степень этого эффекта андрогенов у кастрированных и евнухоидных мужчин больше, чем у здоровых мужчин.

Открытие анаболических эффектов андрогенов стимулировало поиски синтетических аналогов этих соединений, которые обладали бы максимальной анаболической и минимальной андрогенной активностью. Был получен ряд перспективных веществ, у которых отношение анаболической активности к андрогенной оказалось сильно измененным. Например, у некоторых стероидов 19-нор-ряда (т. е. лишенных метильной группы в 19-м положении; см. рис. 8-7) это отношение составляет 20 : 1, тогда как у тестостерона — 1 : 1. Однако, хотя 19-нор-соединения обладают меньшей андрогенной активностью, чем тестостерон, пока не известно ни одно из них, которое при клинических испытаниях было бы вообще лишено этой активности.

Не существует убедительных, достаточно проконтролированных данных, которые свидетельствовали бы о том, что анаболические соединения могут в большей степени повлиять на спортивные результаты, чем одна только тренировка. Кроме того, применение подобных веществ с этой целью сопряжено с существенной опасностью для здоровья спортсмена. Посколь-

ку их принимают перорально, они могут вызвать различного рода поражения печени, в том числе и опухоли. Данные средства в больших количествах широко применяются спортсменами обоего пола, в том числе и подростками. Как правило, авторитетные врачи осуждают эту практику.

Клеточный механизм действия андрогенов

Большинство исследований клеточного механизма действия андрогенов выполнено на предстательной железе и семенных пузырьках крыс, и поэтому полученные результаты, по-видимому, нельзя применить к тем тканям, где 5α-ДГТ не является активной внутриклеточной формой тестостерона (см. рис. 8-8). Хотя результаты проведенных исследований в целом укладываются в схему действия стероидных гормонов, рассмотренную в гл. 2, все еще нет достаточной уверенности, что стимулирующее влияние андрогенов на клетки предстательной железы и семенных пузырьков объясняется усилением транскрипции генов. Исследователям механизма действия эстрогенов повезло с модельной системой (яйцевод цыпленка), в которой эти гормоны стимулируют синтез многих специфических белков (овальбумин и др.). К сожалению, для андрогенов не существует таких четких маркеров, позволяющих оценить их действие на клетки-мишени.

Что происходит в клетках предстательной железы под влиянием андрогенов, можно себе представить исходя из краткого описания ближайших последствий кастрации или лишения андрогенов (Liao). Через несколько часов содержание ДГТ в ядрах клеток предстательной железы падает вдвое, а через 24 ч гормон здесь совсем не обнаруживается. Скорость синтеза РНК примерно за 18 ч уменьшается вдвое и через четыре дня и позднее устанавливается на уровне 20% от нормы. В течение 48 ч содержание белков, входящих в состав ядерных РНК-полимераз и рецепторов ДГТ, остается примерно на контрольном уровне, но между третьими и четвертыми сутками оно падает на 50% от нормы.

Добавление тестостерона к лишенным его клеткам восстанавливает перечисленные параметры. Прежде всего в ядрах отмечается накопление ДГТ. Через один час возрастает синтез РНК. Затем увеличивается содержание полимеразных белков и, наконец, восстанавливается уровень рецепторного белка. Эти эффекты согласуются с основной схемой механизма действия стероидных гормонов (см. выше). Однако Лиао считает, что немаловажно и влияние гормона на активность белков цитозоля предстательной железы, связывающих транспортную РНК. Этот эффект наблюдается уже через 10 мин после введения

андрогенов и не блокируется ингибиторами синтеза белка и РНК. Антиандрогены препятствуют проявлению данного внеядерного эффекта.

Эти интересные наблюдения говорят о том, что при более глубоком изучении механизма действия стероидных гормонов вполне может оказаться, что стимуляция транскрипции служит лишь отдельным этапом координированной клеточной реакции, в которой внеядерные процессы играют не меньшую роль, чем регуляция транскрипции.

Генетика и система гипофиз—семенники

Подобно другим эндокринным подсистемам, систему гипофиз — семенники затрагивают разнообразные врожденные дефекты метаболизма. Те из них, которые могут локализоваться в трофических центрах мозга и гипофиза, плохо изучены .Описаны мутации, которые нарушают активность ферментов, ответственных за биосинтез стероидных гормонов, а также за ответную реакцию органов-мишеней на стимуляцию андрогенами.

У больных с нарушениями стероидогенеза может обнаружиться недостаточность любого из ферментов, перечисленных на рис. 8-5. Поскольку некоторые из них принимают участие в образовании стероидов коры надпочечников, одни и те же биохимические нарушения могут наблюдаться в обеих железах. Генетические нарушения стероидогенеза будут рассмотрены в гл. 11.

Помимо синдрома недостаточности 5α-редуктазы (описанного выше при анализе механизмов развития мужской половой системы) у людей и экспериментальных животных наблюдаются некоторые близкие состояния, имеющие общее название *синдром тестикулярной феминизации.* Вначале считалось, что эти нарушения обусловлены единым дефектом, но в настоящее время их относят на счет нескольких различных врожденных ошибок метаболизма (см. гл. 2 и 3, где описаны подобные нарушения реакций на другие стероидные или пептидные гормоны). Так, в некоторых случаях отсутствие реакции определяется *недостаточностью нормальных рецепторов* или наличием *рецепторов с низким сродством к гормону;* в других — несмотря на присутствие адекватных рецепторов, *гормон-рецепторный комплекс неспособен инициировать биологическую реакцию.* Последствия недостаточности 5α-редуктазы, в частности для процесса развития, уже обсуждались. Все эти нарушения могут быть как полными, так и частичными.

Полная форма у человека (иногда называемая мужским псевдогермафродитизмом) передается по наследству с Х-хромосомой, и заболевание может встречаться у нескольких членов одной и той же семьи, почти всегда воспитывавшихся как жен-

щины, однако имеющих мужской генотип (XY) и семенники, но не имеющих женских внутренних половых органов. Гениталии у таких индивидуумов определенно женские, но отсутствуют волосы на лобке и в подмышечных впадинах. Уровень тестостерона в сыворотке их крови либо нормален, либо выше нормы, и они, как правило, не реагируют на экзогенный тестостерон или ДГТ. Во время полового созревания у таких лиц часто развиваются грудные железы, по-видимому, из-за отсутствия ингибиторного влияния тестостерона на зачаток этих желез, как это имеет место в период полового созревания здоровых мальчиков.

Прекрасный обзор нарушений полового развития опубликован Джаффе (Jaffe).

Сперматогенез

Клетки, участвующие в сперматогенезе, и гормональная регуляция их активности

У особей обоего пола еще до завершения образования сперматозоидов и яйцеклетки происходит мейоз (разделение диплоидного набора хромосом на два гаплоидных). Мейоз и последующее объединение мужских и женских хромосом в момент оплодотворения дают начало новой индивидуальной особи. Бернстейн (Bernstein) в интересном эссе под названием «Почему дети молоды» предполагает, что объединение двух наборов хромосом позволяет им принять конфигурацию, обеспечивающую наиболее благоприятные условия для вырезания и репарации ДНК. Согласно гипотезе, рассматривающей старение как накопление повреждений ДНК, «молодая» ДНК оплодотворенного яйца должна быть свободна от «ошибок» в большей мере, чем когда бы то ни было.

Процесс гаметогенеза у особей мужского пола называется сперматогенезом. *Сперматогенез* начинается со стадии сперматиды (22 X или 22 Y); он характеризуется отсутствием не только деления клеток, но и (за исключением его ранних стадий) даже синтеза РНК[1]. Многие морфологические и биохимические изменения, происходящие в развивающихся сперматидах, обусловлены, очевидно, «включением» и «выключением» в заданном порядке трансляции предсуществующих долгоживущих мРНК.

У особей женского пола происходит соответствующий процесс *оогенеза.* Гаметогенез представляет собой интересный пример вероятностного процесса. В женском эмбриональном яич-

---

[1] Подробнее о сперматогенезе см. Б. Албертс и др. Молекулярная биология клетки, т. 4, с. 36—38. — М.: Мир, 1987. — *Прим. ред.*

нике содержится 800 000 зародышевых клеток, но за время детородного периода (около 35—40 лет) только 350—400 из них созревают в полноценные яйцеклетки. С другой стороны, у мужчин, принимая продолжительность половой зрелости за 60 лет, продукция зародышевых клеток достигает 30 000 000 в сутки! Столь большие различия должны быть связаны с тем, что овулировавшая яйцеклетка перемещается к месту оплодотворения по фаллопиевой трубе. Примерно из 200 000 000—300 000 000 сперматозоидов, в среднем содержащихся в эякуляте, только 100 могут достигнуть фаллопиевых труб. Явная избыточность продукции мужских гамет просто отражает тот факт, что сперматозоиду при попадании эякулята в женские половые пути еще предстоит достичь яйцеклетки.

В изучение сперматогенеза огромный вклад внесли исследователи, особенно Клермонт (Clermont) и Фосетт (Fawcett), которые использовали разнообразные морфологические подходы. Клермонт в основном применял гистологические и радиоавтографические методы на уровне световой микроскопии, тогда как Фосетт работал с помощью электронного микроскопа. Детальное морфологическое описание сперматогенеза выходит за пределы нашей компетенции. Читатели, не знакомые с публикациями указанных выше авторов, должны обязательно ознакомиться с обзором их изящных экспериментов.

Главный вывод из этих работ, сделанный в основном Фосеттом, заключается в том, что выделение и изучение отдельных клеток семенного канальца не дает возможности оценить чрезвычайную сложность обмена информацией, который осуществляется между ними и с интерстициальными клетками Лейдига. Хотя все тонкости такого обмена среди указанных клеток пока неизвестны, их взаиморасположение, очевидно, существенно для контроля, инициации и поддержания продукции сперматозоидов. В сперматогенезе, транспорте и созревании сперматозоидов участвуют клетки пяти основных типов: 1) клетки Лейдига, 2) миоэпителиальные клетки, 3) клетки Сертоли, 4) развивающиеся зародышевые клетки и 5) эпителиальные клетки эфферентной системы протоков. Каждая клетка оказывает прямое или косвенное влияние на активность других. Клетки разных типов взаимодействуют друг с другом, либо секретируя химические посредники, либо путем прямого клеточного контакта. О механизмах последнего известно очень мало, но об одном примере такого взаимодействия уже упоминалось, когда шла речь об индуцированной организации канальцев в эмбриональном семеннике под действием H-Y-антигена. Предполагается, что в этом процессе участвуют поверхностные гликопротеины. Организация и взаимодействие перечисленных типов клеток приводит к явному синергическому эффекту.

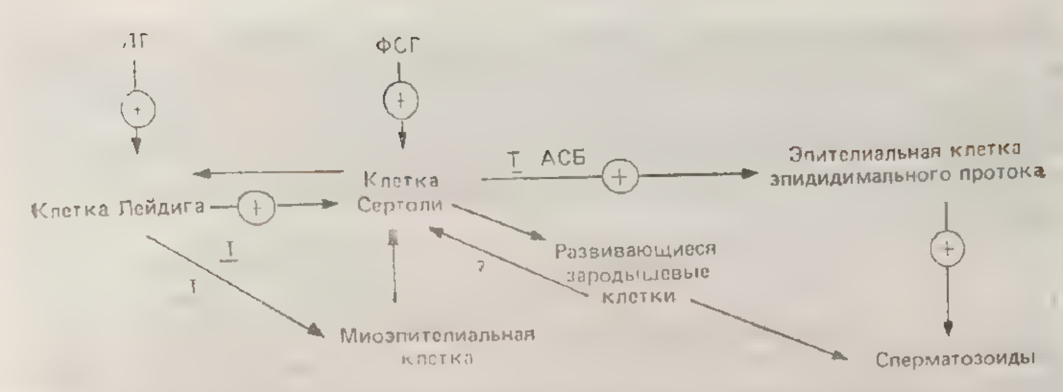


Рис. 8-9. Гормональная регуляция сперматогенеза и процессинга сперматозоидов. АСБ — андроген-связывающий белок. (С помощью И. Фритца.)

Попытка обобщения огромного экспериментального материала отражена на рис. 8-9. Хотя эта схема наверняка сверхупрощена, она все же описывает многие надежно установленные особенности сперматогенеза. На рис. 8-10 показана связь клеток Сертоли с развивающимися зародышевыми клетками.

Интерстициальные клетки Лейдига имеют свой собственный сложный жизненный цикл. Они отличаются большими размерами и активны на поздних стадиях эмбриогенеза, в раннем неонатальном периоде и во время инфантильного выброса тестостерона. Затем они «успокаиваются» вплоть до пубертатного периода, когда ЛГ начинает стимулировать их к образованию тестостерона из запасенного холестерола. Клетки Лейдига имеют рецепторы ЛГ, но не ФСГ. Однако введение неполовозрелым животным ФСГ увеличивает число рецепторов ЛГ на плазматической мембране клеток Лейдига и чувствительность последних к стимулирующему действию ЛГ. Вероятно, здесь проявляется опосредованное действие ФСГ (через клетки Сертоли?), но его механизм не выяснен.

Высокая концентрация тестостерона, выделяющегося у основания семенных канальцев, необходима для сперматогенеза. Если подавить секрецию гонадотропинов экзогенным тестостероном, то, несмотря на количество последнего, достаточное для сохранения вторичных половых признаков и либидо, клетки Лейдига атрофируются, и сперматогенез прекращается. (*Высокие* дозы тестостерона могут *поддерживать* сперматогенез и без ФСГ.) Как уже отмечалось, стимулирующее действие ЛГ опосредуется системой цАМФ, хотя и не удается определить увеличения концентрации этого нуклеотида.)

Клетки Сертоли, подобно *клеткам гранулезы* яичников, имеют мезенхимальное происхождение. Для тех и других характерен особый жизненный цикл. Между клетками Сертоли и клетками гранулезы много общего (например, чувствительность к ФСГ, стимулируемая ФСГ ароматазная активность, синтез ин-

гибина, или фолликулостатина и т. д.), но имеются и существенные различия (см. Fritz). Представление об их единстве базируется на том, что основная функция тех и других (осуществляемая разными способами) заключается в формировании высокоспециализированного микроокружения для развития зародышевых клеток.

На протяжении жизненного цикла индивидуума роль клеток Сертоли меняется. На стадии образования примитивного семенника пре-сертолиевы клетки, узнающие друг друга с помощью поверхностного X-Y-антигена, собираются вместе, формируя семенные тяжи. У *эмбриона* клетки Сертоли синтезируют и секретируют действующий паракринно фактор, или гормон, ингибирующий мюллеров проток. То обстоятельство, что этот гормон действует путем локальной диффузии, доказывается сохранением мюллерова протока в неразвившемся семеннике у лиц с односторонне развитым семенником.

У *неполовозрелых* животных и человека клетки Сертоли пролиферируют и приобретают способность превращать тестостерон в эстрадиол с помощью ароматазной реакции. ФСГ повышает уровень цАМФ только у неполовозрелых крыс. Отсутствие повышения концентрации цАМФ в ответ на действие ФСГ у взрослых не связано ни с активацией фосфодиэстеразы, ни со снижением числа рецепторов ФСГ. Предполагается, что

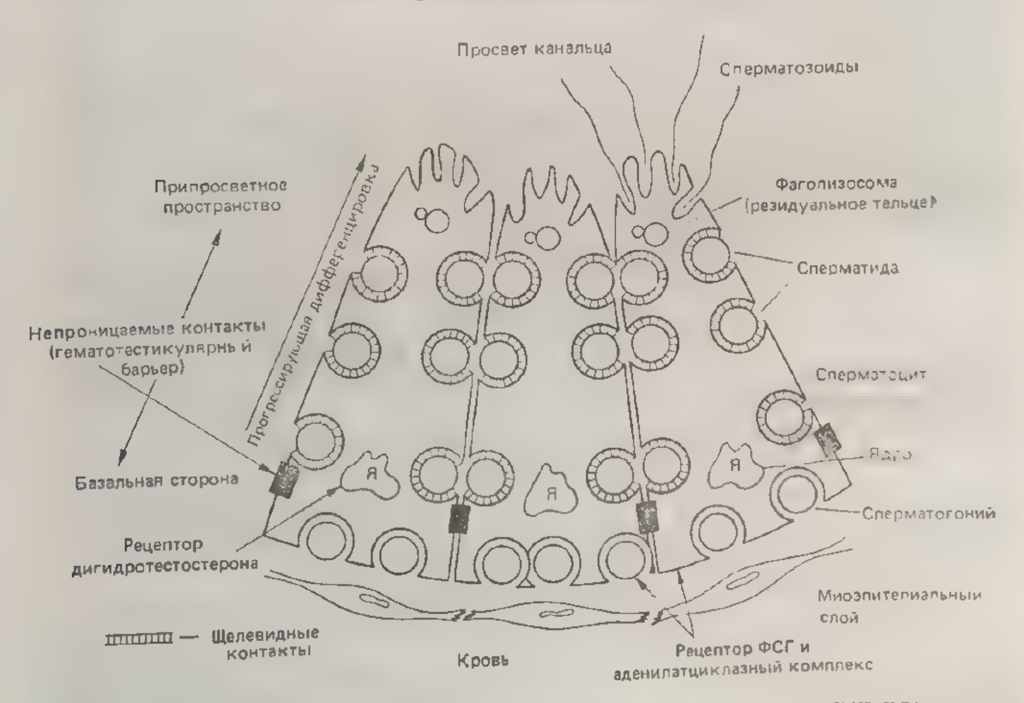


Рис. 8-10. Связь клеток Сертоли с развивающимися зародышевыми клетками.

уровень цАМФ не увеличивается в окружении развивающихся зародышевых клеток.

У взрослых клетки Сертоли не делятся, но приобретают комплекс новых свойств, к которым относятся:

1) синтез андроген-связывающего белка в ответ на действие ФСГ или тестостерона (андроген-связывающий белок иммунологически близок, но не идентичен тестостерон-эстрадиол-связывающему глобулину, ТЭСГ; см. ниже);

2) способность секретировать в просвет канальца жидкость, богатую калием и бикарбонатом;

3) синтез и секреция ингибина;

4) синтез фактора роста семенных канальцев, который отличается от всех других известных ростовых факторов (Bellvé);

5) способность фагоцитировать резидуальные тельца — остатки продуктов сперматогенеза;

6) формирование и поддержание целостности гемато-тестикулярного барьера, который образован плотными контактами между соседними клетками Сертоли.

Просветы семенных канальцев и система протоков, по которым сперматозоид должен пройти в семявыносящий проток, располагаются как бы уже вне организма, в том же смысле, в каком «вне организма» можно считать содержимое желудочно-кишечного и мочевого тракта. Тесные контакты между клетками Сертоли вблизи просвета канальца обеспечивают сохранение в нем богатой калием и бикарбонатом среды (несколько напоминающей богатый натрием ультрафильтрат плазмы) и защищают развивающиеся зародышевые клетки от потенциально токсичных веществ крови. Поверхностные антигены сперматозоидов служат для организма маркером «не своего». Когда гемато-тестикулярный барьер становится проницаемым, как это случается у мужчин, подвергшихся вазэктомии в целях контрацепции, обычно появляются антитела к сперматозоидам (см. Lepow).

Своеобразие клеток Сертоли заключается и в том, что они являются мишенями (т. е. содержат специфические рецепторы) как для гликопротеинового гормона — ФСГ, так и для стероида — тестостерона. Оба гормона оказывают существенное влияние на сперматогенез, но для его поддержания их совместное присутствие не является необходимым. Если путем гипофизэктомии «удалить» ФСГ, то большие дозы тестостерона (при немедленном их введении) способны поддерживать сперматогенез. Если же после гипофизэктомии пройдет время, достаточное для регрессии семенников, то для восстановления сперматогенеза необходим именно ФСГ. По-видимому, ФСГ обеспечивает реактивность клеток Сертоли по отношению к андрогенам. Два наиболее очевидных эффекта ФСГ в регрессирующих семенни-

ках заключаются в стимуляции образования тесных контактов и торможении дегенерации сперматогониев; этот процесс происходит в базальном отделе семенников непрерывно (Means).

Реагируют ли сперматогонии, которые располагаются на базальной (ближайшей к крови) стороне гемато-тестикулярного барьера, непосредственно на ФСГ — не совсем ясно. Стейнбергер, Орт и др. (Stinberger, Orth) описали связывание ФСГ сперматогониями. Более того, щелевидные контакты, характерные для развивающихся зародышевых клеток и клеток Сертоли в припросветном пространстве, отсутствуют между сперматогониями и клетками Сертоли в базальном отделе. Данные Минса (Means) о том, что ФСГ увеличивает число сперматогониев, уменьшая скорость их элиминации, свидетельствуют о возможности прямого влияния ФСГ на самые примитивные зародышевые клетки.

Когда какой-либо клон сперматогониев не остается инертным, а вступает на путь образования сперматоцитов, наблюдается поразительный процесс перевода примитивных гамет из базального отдела в припросветное пространство: две соседние клетки Сертоли «услужливо» ликвидируют тесный контакт, препятствующий движению сперматогониев по направлению к просвету канальца, и сразу же образуют другой такой же контакт под ними. Молекулярные механизмы этого «маневра» не изучены, но известно, что клетки Сертоли синтезируют и секретируют по крайней мере два протеолитических фермента, которые могли бы принимать участие в ликвидации исходного барьера, образованного тесным контактом.

Оказавшись в припросветном пространстве, клетки определенного клона, связанные межклеточными мостиками, синхронно следуют своей программе развития всегда «в объятиях» клеток Сертоли. После высвобождения готовых сперматозоидов клетки Сертоли функционируют как фагоциты, уничтожая резидуальные тельца — остатки поступивших в просвет канальца гамет.

Некоторые особенности строения клеток Сертоли показаны на рис. 8-10. ФСГ стимулирует образование ими специального белка, называемого андроген-связывающим белком. Этот белок-переносчик с высоким сродством связывает тестостерон и ДГТ. Его синтез и секреция стимулируются и тестостероном. (Хотя андроген-связывающий белок сходен с присутствующим в плазме крови глобулином, связывающим стероидные гормоны, эти белки различаются как иммунологически, так и профилем связывания стероидных гормонов.) Таким образом, клетки Сертоли реагируют продукцией одного и того же белка (андроген-связывающего) как на ФСГ (или цАМФ или холерный токсин), так и на тестостерон. Одновременное воздействие

обоих гормонов приводит к продукции большего количества андроген-связывающего белка, чем действие каждого из них по отдельности. Присутствие андроген-связывающего белка в жидкости семенных канальцев обеспечивает в ней высокую концентрацию андрогенов, равную примерно их концентрации в венозной крови семенников. Хотя роль этих андрогенов не совсем ясна, предполагают, что они необходимы для функционирования высокоспециализированных эндотелиальных клеток, выстилающих систему протоков, особенно в придатке семенника (см. ниже).

Если клетки Сертоли, стимулированные ФСГ и тестостероном, необходимы для сперматогенеза, то и присутствие развивающихся зародышевых клеток, вероятно, влияет на активность клеток Сертоли. В семенниках, содержащих только клетки Сертоли (что, может быть, связано с относительно высокой температурой брюшной полости или разрушением гамет облучением, см. ниже), уровень ФСГ в крови возрастает и, вероятно, из-за отсутствия ингибитора секреции ФСГ — ингибина. Поскольку источником ингибина считают клетки Сертоли, можно заключить, что последние продуцируют ингибин, регулирующий секрецию ФСГ, только в присутствии нормально развивающихся зародышевых клеток. При отсутствии последних ингибин не вырабатывается, и секреция ФСГ выходит из-под сдерживающего контроля.

Миоэпителиальные клетки (см. рис. 8-10) связаны как с клетками Лейгида, так и с клетками Сертоли. Андрогены абсолютно необходимы для дифференцировки и жизнедеятельности миоэпителиальных клеток, и их анатомическое расположение рядом с клетками Лейдига обеспечивает высокую локальную концентрацию андрогенов. Предположение об их функциональном родстве с клетками Сертоли основано на том (см. Fritz), что последние растут в тканевой культуре лишь относительно короткое время. Однако, если клетки Сертоли поместить на подложку из миоэпителиальных клеток, время их роста in vitro увеличивается. Фибробласты или другие клетки млекопитающих не могут в таких условиях заменить миоэпителиальные клетки.

Влияние физических факторов и фармакологических средств на сперматогенез (рис. 8-11)

Тепло

Близкое взаимное расположение главной артерии и вены семенника обусловливает переход тепла из первой во вторую. В результате содержимое мошонки имеет меньшую температу-

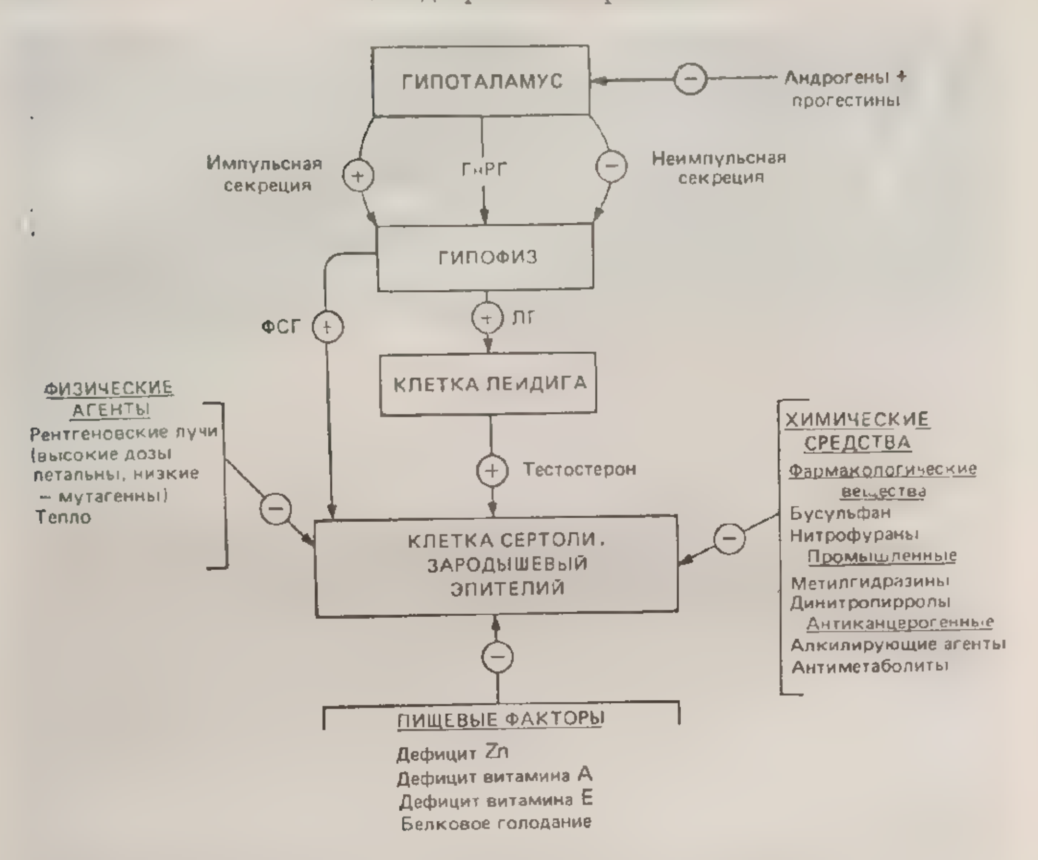


Рис. 8-11. Обобщенная схема действия физических факторов, химических соединений и дефицита некоторых питательных веществ на гаметогенез у особей мужского пола.

ру, чем органы брюшной полости. Если семенник экспериментального животного с помощью лигатур фиксировать в брюшной полости или в том случае, когда у человека не происходит опущения семенника в мошонку, то возникает состояние крипторхизма. При этом из канальцев неопустившегося семенника исчезает большинство зародышевых элементов и остаются только клетки Сертоли. В настоящее время известно, что и они при температуре брюшной полости оказываются функционально неполноценными.

Чувствительность развивающихся зародышевых клеток к температуре брюшной полости определяется тем, что лизосомы сперматоцитов и сперматид при 37 °С более лабильны, чем лизосомы клеток Сертоли или гепатоцитов. Причиной регрессии зародышевых элементов и является, очевидно, высвобождение лизосомных ферментов.

Рентгеновское облучение

Облучение оказывает на мужские зародышевые клетки два разных, но имеющих сходные механизмы, эффекта. Высокие дозы облучения способны убивать сперматогонии путем образования в клетке свободных радикалов. Последние обладают высокой реакционной способностью и, взаимодействуя с генетическим материалом и другими макромолекулами, разрушают клетки, особенно быстро делящиеся. Чувствительность к радиационному повреждению объединяет клетки семенника с другими быстро пролиферирующими клетками, такими, как эпителий кишечника и клетки костного мозга.

В меньших дозах облучение аналогичным образом может вызвать мутации. Это имеет определенное значение для диагностической рентгенологии, где широко применяется свинцовая защита гонад от воздействия радиации.

Лекарственные вещества и токсины

Показано, что многие лекарственные вещества и токсины нарушают сперматогенез, и некоторые из них были изучены как возможные мужские контрацептивы. В целом они оказались высокотоксичными и в ряде случаев (азотистый иприт) мутагенными. Бусульфаны и метилгидразины обычно ингибируют ту фазу сперматогенеза, которая связана с делением сперматогониев. Динитропирролы тормозят ранние стадии развития сперматид. Антиметаболит 6-азаурацил и нитрофураны угнетают весь процесс в целом. Антиандрогены ингибируют как деление сперматогониев, так и редукционное деление, но в качестве мужских контрацептивов не применяются, поскольку снижают либидо и приводят к регрессии вторичных половых признаков.

Наиболее перспективным химическим подходом к решению проблемы мужской контрацепции можно считать совместное использование тестостерона с прогестагеном. В результате тормозится секреция гонадотропинов и наступает атрофия клеток Лейдига, в то время как концентрация тестостерона в крови поддерживается на необходимом уровне. Однако этот метод не прошел широких испытаний.

Вторым по распространенности (после презервативов) методом контрацепции у мужчин является вазэктомия, которая заключается в удалении небольшого участка семявыносящего протока. Этот способ через 90—120 дней приводит к надежному исчезновению сперматозоидов из эякулята, но возникающие изменения считаются необратимыми. Последние публикации, однако, свидетельствуют о возможном восстановлении семявыносящего протока после микрохирургической операции.

Процессинг сперматозоидов в семенных канальцах и капаситация

Новообразованный сперматозоид не обладает подвижностью, не способен к оплодотворению и обычно считается незрелым. По мере прохождения через прямые семенные канальцы в сеть семенника и далее в выносящие канальцы семенника, протоки придатка семенника, семявыносящий проток и семявыбрасывающий проток развитие сперматозоида продолжается. Незрелые и неподвижные зародышевые клетки переносятся через систему протоков в основном за счет энергии сокращения *миоэпителиальных клеток*, окружающих канальцы. Эти гладкомышечные клетки лишены иннервации, андроген-зависимы и обладают ритмической активностью. Известно, что они чувствительны к окситоцину, однако механизмы регуляции активности этих клеток изучены недостаточно. Некоторые эпителиальные клетки, выстилающие систему протоков, снабжены ресничками, которые, вероятно, принимают участие в перемещении содержимого протоков.

Наиболее выраженные изменения, будь то морфологические, физиологические или биохимические, выявляются при сравнении сперматозоидов, поступающих в протоки придатка семенника и выходящих из них. Клетки, выстилающие эти протоки, обладают как секреторной, так и всасывающей активностью, которая абсолютно зависит от андрогенов. Концентрация последних в сети семенника в 15 раз выше, чем в периферической венозной крови и примерно равна таковой в венозной крови семенников. Таким образом, система протоков (в основном при участии андроген-связывающего белка) испытывает воздействие очень высоких концентраций андрогенов.

Процессинг сперматозоидов по мере их прохождения через протоки придатка семенника наиболее полно изучен у быков (см. Hoskins et al.). В пробах, взятых из проксимальной головки придатка (ближайшей к семеннику), сперматозоиды лишены подвижности. К моменту достижения ими хвоста придатка (у конца семявыносящего протока) они уже обладают *продольной подвижностью*. Промежуточная стадия на пути к этому состоянию характеризуется появлением бесцельных круговых плавательных движений. Одновременно с помощью световой и электронной микроскопии можно наблюдать и морфологические изменения сперматозоидов. Приобретение ими способности перемещаться вперед — важный этап процессинга.

Продольная подвижность обеспечивается по крайней мере двумя факторами: 1) увеличением содержания в сперматозоидах цАМФ и 2) появлением специфического белка (частично очищенного), который получил название «белок продольной

подвижности». Остроумный метод его определения основан на том, что подвижные сперматозоиды за определенный промежуток времени оставляют на пленке поляроида след, напоминающий фотографии субатомных частиц. Белки продольной подвижности — это группа гликопротеинов, которые могут существовать в агрегированном состоянии и обнаруживаются в любом участке системы протоков. При их воздействии на неподвижные сперматозоиды, отличающиеся низкой концентрацией цАМФ, стимуляции продольной подвижности не происходит. Полагают, что данный гликопротеин действует путем прикрепления к какому-то участку мембраны сперматозоида. Хотя изменения концентрации цАМФ во время прохождения сперматозоидами протоков придатка семенника надежно установлены, механизм этих изменений остается пока неизвестным.

Капаситация

В 1951 г. Аустин и Чанг (Austin, Chang) обнаружили, что сперматозоиды приобретают способность к оплодотворению яйцеклетки только после некоторого минимального периода пребывания в женском половом тракте. Процесс или процессы, протекающие в этот период и направленные на превращение сперматозоидов в полностью «дееспособные» клетки, получил назание «капаситации». Данный процесс в течение ряда десятилетий интенсивно изучался у крыс, мышей, хомяков и кроликов, но недавно выяснено, что он происходит и у человека.

Акросома представляет собой лизосомный пузырек (расположенный под плазматической мембраной между передним концом сперматозоида и его ядром), который содержит разнообразные ферменты, способные разрушать макромолекулы. Оплодотворение возможно после выхода этих ферментов в окружающее яйцеклетку пространство перед ее слиянием со сперматозоидом. Высвобождение содержимого акросомы называется *акросомальной реакцией.*

Капаситация включает по меньшей мере два этапа: 1) подготовку сперматозоида к акросомальной реакции и 2) увеличение активности жгутика (гиперактивность). До сих пор последнее удавалось наблюдать только у лабораторных животных.

Еще недавно попытки разработать надежный метод анализа капаситации у человека наталкивались на серьезные трудности. Однако, когда было показано, что яйцеклетки хомяка, выделенные из zona pellucida, способны поглощать гетерологичные сперматозоиды, появилась возможность создания такого метода.

Хотя молекулярные основы капаситации изучены недостаточно подробно, интересно ознакомиться с современными представлениями в этой области и убедиться, насколько близко они напоминают представления о механизмах действия гормона на чувствительные клетки. Прежде всего следует отметить, что семенная жидкость содержит вещества, *ингибирующие* способность сперматозоидов оплодотворить яйцеклетку, и поэтому первый этап капаситации сводится к удалению таких веществ. Существенную роль играет изменение поверхности сперматозоидов, и во время капаситации белки и фосфолипиды их плазматических мембран модифицируются. Конечным результатом этих недостаточно изученных мембранных изменений можно считать повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+}. Последнее необходимо для растворения и фрагментации переднего участка плазматической мембраны сперматозоида и наружной мембраны акросомы, что обеспечивает выход акросомальных ферментов и перемещение внутренней мембраны акросомы к переднему краю сперматозоида. Приток Ca^{2+} в клетку приводит и к ускорению вращения жгутика. В акросомальной реакции принимает участие и цАМФ, поскольку многие особенности этой реакции воспроизводятся аналогами цАМФ и ингибиторами фосфодиэстеразы.

Напрашивается вывод, что природа располагает относительно небольшим разнообразием способов передачи информации, которые определенным образом реализуются в реакциях различных типов клеток. Для акросомальной реакции и стимуляции движения жгутика Ca^{2+} не менее важен, чем для секреторных процессов или мышечного сокращения.

Андрогены и половое поведение

Первое наблюдение, связавшее вырабатываемые семенниками вещества с поведением, было сделано Бертольдом (Berthold) в 1849 г., который отметил отсутствие полового интереса к курам у кастрированных петухов и возобновление его после внутрибрюшинной имплантации петухам одного семенника. Связь между андрогенами и поведением, особенно у экспериментальных животных, изучена достаточно подробно.

Некоторые виды животных (например, крысы) обладают стереотипным половым поведением, которое поддается количественной характеристике. У крыс (или животных других видов), кастрированных в неполовозрелом возрасте, половая активность отсутствует. Кастрация взрослых самцов крыс приводит к изменению особенностей полового поведения в предсказуемой последовательности: вначале исчезает эякуляция, затем спаривание и, наконец, попытки к нему. У каждого изученного вида

снижение половой активности требует разного времени — от недель до месяцев и даже (у человека) лет. Иными словами, половая активность после кастрации снижается гораздо медленнее, чем из крови исчезает тестостерон. В других экспериментах было показано, что андрогены надпочечников не играют существенной роли в поддержании половой активности после кастрации особей мужского пола.

Половое поведение можно восстановить, вводя кастратам андрогены, но для этого требуются бóльшие дозы тестостерона, чем для восстановления массы предстательной железы или семенных пузырьков. Это связывают с потерей чувствительности участков ЦНС, ответственных за восстановление полового поведения. С другой стороны, концентрация тестостерона в крови, необходимая для *поддержания* нормального полового поведения после кастрации, намного меньше таковой у интактных самцов того же возраста. Таким образом, с поведенческой точки зрения нормальная концентрация тестостерона в крови обеспечивает значительный «резерв безопасности». В этой связи следует отметить, что у человека, судя по результатам анкетирования, отсутствует закономерная связь между половой активностью и концентрацией тестостерона в крови.

Хотя имеются данные, что тестостерон облегчает спинномозговые рефлексы, связанные с копуляцией, его влияние на поведение определяется главным образом действием на преоптическое поле гипоталамуса. Это утверждение основано на экспериментах, в которых регистрировались поведенческие эффекты имплантации кристаллического тестостерона в различные области гипоталамуса кастрированных крыс. Некоторое восстановление половой активности наблюдалось при имплантации тестостерона в заднюю область гипоталамуса (вблизи мамиллярного тела), но наиболее воспроизводимые результаты давала имплантация в преоптическое поле. При введении тестостерона в любую другую область мозга нормальное половое поведение не восстанавливалось, причем эффект гормона *не* был обусловлен его всасыванием в кровь, поскольку уровень андрогена в крови при отрицательных результатах внутримозговой имплантации был выше, чем при его имплантации в гипоталамус.

В настоящее время общепринято, что тестостерон компенсирует нарушения полового поведения путем превращения в соответствующих нейронах в эстрадиол. Эстрогены и ДГТ порознь неэффективны для восстановления полового поведения у кастрированных животных, но сочетание этих соединений столь же эффективно, что и сам тестостерон.

Результаты обследования нескольких сотен мужчин, подвергшихся легальной кастрации в Норвегии, в целом совпали

с данными, полученными на крысах. Наиболее отличительной особенностью явилась крайняя вариабельность лаг-периода потери либидо и потенции после операции. У некоторых мужчин это наступало очень скоро, тогда как другие еще годы продолжали жить половой жизнью.

Не перестает обсуждаться связь между андрогенами или их недостаточностью с мужским гомосексуализмом. Имеются две основные теории возникновения гомосексуальности: 1) гомосексуальная ориентация определяется временной недостаточностью андрогенов в период половой дифференцировки и развития мозга и 2) сексуальная направленность формируется постнатально и зависит от психосоциального воспитания и опыта. Это старый спор о природе и воспитании, и его необязательно решать с позиций «так или иначе». Половое поведение человека, включая объект вожделения, столь сложно, что было бы крайним упрощением считать, что оно имеет какую-либо одну причину.

Дернер и др. (Dörner et al.) обобщили аргументы в пользу роли эндокринного фактора при мужской гомосексуальности. Определяя концентрации ФСГ, ЛГ и тестостерона в плазме крови, они обнаружили статистически значимые (но всегда с перекрыванием данных) различия между тремя группами мужчин: гетеросексуалистов, гомосексуалистов без признаков феминизации и гомосексуалистов с признаками последней. Вывод сводился к тому, что различная степень андрогенной недостаточности в критический период дифференцировки мозга может определять разную степень нарушений полового поведения. Очевидно, однако, что эту теорию невозможно доказать ретроспективно. Одно из наиболее интересных наблюдений (Gladue et al.) заключается в том, что реакция ЛГ сыворотки на введение эстрогена у женоподобных гомосексуалистов и гетеросексуальных мужчин различна. Если у женщин при введении эстрадиола вначале проявляется отрицательная, а затем положительная обратная связь с результирующим повышением содержания ЛГ над исходным уровнем, то у гетеросексуальных мужчин уровень ЛГ остается ниже исходного на протяжении всего периода исследований. Женоподобные гомосексуалисты реагируют на введенный эстрадиол по принципу положительной обратной связи, и концентрация ЛГ у них находится на промежуточном уровне между нормальными мужчинами и женщинами.

Вряд ли можно сомневаться в том, что не только природа, но и воспитание влияет на половое поведение (см., например, Erhardt). Среда, социальный и культурный опыт, очевидно, играют важную роль в становлении полового поведения среди гетеросексуальных лиц обоего пола, но влияние этих факторов

не менее велико и среди гомосексуалистов. В старых спорах «природа или воспитание» частично правыми оказались сторонники обеих точек зрения (хорошим примером служит этиология ожирения).

Полагают, что поведенческие или ситуационные факторы могут стимулировать или ингибировать выделение ГнРГ и тем самым менять уровень тестостерона в крови. Часто цитируется одно исследование (Anonymous, см. список литературы), в котором описывается ускорение роста бороды у человека, *предвкушающего* половой акт. Подобно этому, у молодого самца обезьяны, преследуемого вожаком, отмечено резкое падение уровня тестостерона в сыворотке. При помещении его в клетку с самками содержание гормона нормализовалось. Снижение секреции гонадотропинов у обезьян в условиях психологического стресса подробно описано Мейсоном (Mason). В целом же такие эффекты лучше изучены у особей женского пола.

Желающие детально ознакомиться с этим интересным предметом могут обратиться к публикациям Бича и Дэвидсона (Beach, Davidson), Берманта и Девидсона (Bermant, Davidson), а также к монографии Гоя, Мак-Ивена и др. (Goy, McEwen et al.).

Литература[1]

Anonymous (1970). Effects of sexual activity on beard growth in man, Nature, **226**, 869.

Arbatti M. I., Seidah N. E., Rochemont J. et al. (1985). β_2 inhibin contains the active core of human seminal plasma β inhibin: Synthesis and bioactivity, FEBS Lett, **181**, 57.

Baker H. W. G., Bremner W. J., Burger H. G. et al. (1976). Testicular control of follicle-stimulating hormone secretion, Recent. Prog. Horm. Res., **32**, 429.

Baker H. W. G., Burger H. G., de Kretser D. M. et al. (1976). Changes in the pituitary-testicular system with age, Clin. Endocrinol., **5**, 349.

Bardin C. W., Bullock L. P., Sherins R. J. et al. (1973). Androgen metabolism and mechanism of action in male pseudohermaphroditism: A study of testicular feminization, Recent. Prog. Horm. Res., **29**, 65.

Bardin C. W. (1978). Pituitary-testicular axis. In: Yen S. S. C., Jafte R. B. (eds.). Reproductive Endocrinology. Philadelphia, W. B. Saunders Co.

Bartke A. (1977). Prolactin and the physiological regulation of the mammalian testis. In: Troen P., Nankin H. (eds.). The Testis in Normal and Infertile Men. New York, Raven Press.

Beach F. A. (1975). Behavioral Endocrinology: An emerging discipline, Am. Sci., **63**, 178.

Belvé A. R., Feig L. A. (1984). Cell proliferation in the mammalian testis: Biology of the seminiferous growth factor (SGF). Recent. Prog. Horm. Res., **40**, 531.

Bermant G., Davidson J. M. (1974). Biological Bases of Sexual Behavior. New York, Harper & Row.

[1] См. примечание на с. 40.

Bernstein C. (1979). Why are babies young? Meiosis may prevent aging of the germ line, Perspect. Biol. Med., **22**, 539.
Burger H., de Kretser D. (eds.) (1981). The Testis. New York, Raven Press.
Catt K. J., Dufau M. L. (eds.) (1985). Hormone action and testicular function (Symposium, 107 papers). Ann. NY Acad. Sci.
Channing C. P., Gordon W. L., Liu W.-K. et al. (1985). Physiology and biochemistry of ovarian inhibin, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **178**, 339.
Cheng C. Y., Frick J., Gunsalus G. L. et al. (1984). Human testicular binding protein shares immunodeterminants with serum testosterone estradiol-binding globulin, Endocrinology, **114**, 1395.
Clermont Y. (1972). Kinetics of spermatogenesis in mammals: Seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal, Physiol. Rev., **52**, 198.
Decker G. L., Joseph D. B., Lennarz W. J. (1976). A study of factors involved in induction of the acrosomal reaction in sperm of the sea urchin, Arbacia Punctulata, Dev. Biol., **53**, 115.
De Kretser D. M., Burger H. G., Hudson B. (eds.) (1983). The Pituitary and Testis, New York, Springer-Verlag, New York.
Donohoe P. K., Hutson J. M., Fallat M. E. et al. (1984). Mechanism of action of müllerian inhibiting substance, Ann. Rev. Physiol., **46**, 53.
Dörner G., Rohde W., Stahl F. et al. (1975). A neuroendocrine predisposition for homosexuality in men, Arch. Sex. Behav., **4**, 1.
Dufau M. L., Tsuruhara T., Horner K. A. et al. (1977). Intermediate role of adenosine 3′:5′ cyclic monophosphate and protein kinase during gonadotropin-induced steroidogenesis in testicular interstitial cells, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **74**, 3419.
Edwards R. G. (1985). Current status of human conception in vitro, Proc. R. Soc. Lond. (Biol.), **233**, 417.
Epel D. (1977). The program of fertilization, Sci. Am., **237**, 128.
Erhardt A. A. (1977). Prenatal androgenization and human psychosexual behavior. In: Money J., Musaph H. (eds.). Handbook of Sexology. Amsterdam, Excerpta Medica.
Ewing L. L., Robaire B. (1978). Endogenous antispermatogenic agents: Prospects for male contraception, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., **18**, 167.
Ewing L. L., Zirkin B. (1983). Leydig cell structure and function, Recent Prog Horm. Res., **39**, 599.
Fawcett D. W. (1979). The cell biology of gametogenesis in the male, Perspect Biol. Med., **22**, 556.
Forest M. G. (1983). Role of androgens in fetal and puberal development, Horm. Res., **18**, 69.
Franchimont P., Verstraelen-Proyard J., Hazee-Hagelstein M. T. et al. (1979). Inhibin: From concept to reality, Vitam. Horm., **37**, 243.
Fritz I. B., Rommerts F. G., Louis B. G. et al. (1976). Regulation by FSH and dibutyryl cyclicAMP of the formation of androgen-binding protein in Sertoli cell-enriched cultures, J. Reprod. Fertil., **46**, 17.
Fritz I. F. (1978). Sites of action of androgen and follicle-stimulating hormone on cells of the seminiferous tubule. In. Litwack G. (ed.). Biochemical Actions of Hormones, vol. 5. New York, Academic Press, pp. 249—281.
Fritz I. B. (1982). Comparison of granulosa and Sertoli cells at various stages of maturation: Similarities and differences, Adv. Exp. Med. Biol., **147**, 357.
Gerald P. S. (1976). Sex chromosome disorders, N. Engl J. Med., **294**, 706.
Glabe C. G., Vaquier V. C. (1978). Egg surface glycoprotein receptor for sea urchin sperm bindin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **75**, 881.
Gladue B. A., Green R., Hellman R. E. (1984. Neuroendocrine response to estrogen and sexual orientation, Science, **225**, 1496
Goy R. W., Phoenix C. H. (1971). The effects of testosterone propionate administered before birth on the development of behavior in genetic female rhesus monkeys In: Sawyer C. H., Gorski R. A. (eds.). Steroid Hormones and Brain Function, Berkeley, University of California Press, pp. 192—202.

Goy R. W., McEven B. S. (eds.) (1980). Sexual Differentiation of the Brain, Cambridge, Massachusetts, The MIT Press.
Griffin J. E., Wilson J. D. (1985). The testes. In: Wilson J. D., Foster D. W. (eds.). Williams Textbook of Endocrinology, ed. 7. Philadelphia, W. B. Saunders Co.
Grumbach M. W., Conte F. A. (1981). Disorders of sex differentiation. In: Williams R. H. (ed.). Textbook of Endocrinology, ed. 6. Philadelphia, W. B. Saunders Co, pp. 422—505.
Grumbach M. M. (1983). Control of onset of puberty, Excepta. Med. ICS, 598, 3.
Hoskins D. D., Brandt H., Acott T. S. (1978). Initiation of sperm motility in the mammalian epididymis, Fed. Proc., **37**, 2534.
Huhtaniemi I. T., Warren D. W., Catt K. J. (1984). Functional maturation of the rat testis Leydig cell, Ann. NY Acad. Sci., **438**, 283.
Lepow I. H., Crozier R. (eds.) (1979). Vasectomy: Immunologic and pathophysiologic effects in animals and man, New York, Academic Press.
Liao S., Chang C., Salzman A. G. (1983). Androgen-receptor interaction — an overview. In: Eriksson H., Gustafsson J.-A. (eds.). Steroid Hormone Receptors: Structure and Function (Nobel Symposium No. 57), New York, Elsevier North-Holland, Inc., pp. 407—418.
Lipsett M. B. (1980). Physiology and pathology of the Leydig cell, N. Engl. J. Med., **303**, 682.
Mainwaring W. I. P. (1976). The mechanism of action of androgens, Monogr. Endocrinol., **10**, 1.
Mann T., Lutwak-Mann C. (1981). Male Reproductive Function and Semen, New York, Springer-Verlag New York.
Ohno S. (1978). The role of H-Y antigen in primary sex determination, JAMA, **239**, 217.
Ojeda S. R., Andrews W. W., Advis J. P. et al. (1980). Recent advances in the endocrinology of puberty, Endocr. Rev., **1**, 228.
Orth W. D., Christensen A. K. (1978). Autoradiographic localization of specifically bound ^{125}I-labelled follicle-stimulating hormone on spermatogonia of the rat testis, Endocrinology, **103**, 1944.
Orth J. M. (1984). The role of follicle-stimulating hormone in controlling Sertoli cell proliferation in testes of fetal rats, Endocrinology, **115**, 1248.
Parker M W., Johanson A. J., Rogol A. D. et al. (1984). Effect of testosterone on somatomedin C concentrations in pubertal boys, J. Clin. Endocrinol. Metab., **58**, 87.
Parvinen M. (1982). Regulation of the seminiferous epithelium, Endocr. Rev., **3**, 404.
Peterson R. E., Imperato-McGinley J., Gautier T. et al. (1977). Male pseudohermaphroditism due to steroid reductase deficiency, Am. J. Med., **62**, 170.
Plant T. M., Dubey A. K. (1984). Evidence from the rhesus monkey (*Macacca mulatta*) for the view that negative feedback control of luteinizing hormone secretion by the testis is mediated by deceleration of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone pulse frequency, Endocrinology, **115**, 2145.
Raisman G., Field P. M. (1973). Sexual dimorphism in the neuropil of the preoptic area of the rat and its dependence on neonatal androgen, Brain. Res., **54**, 1
Roy A. K., Chatterjee B., Demyan W. F. (1983). Hormone and age-dependent regulation of $_{2\mu}$-globulin gene expression, Recent. Prog. Horm. Res., **29**, 425.
Ryan A. J. (1981). Anabolic steroids are fool's gold. Fed. Proc., **40**, 2682.
Schmell E., Earles B. J., Breaux C. et al. (1977). Identification of a sperm receptor on the surface of the eggs of the sea urchin, Arbacia punctulata, J. Cell. Biol., **72**, 35.
Schrag S. D., Dixon R. L. (1985). Occupational exposures associated with male reproductive dysfunction, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., **25**, 567.
Snyder P. J. (1984). Clinical uses of androgens, Ann. Rev. Med., **35**, 207.

Steinhardt R. A., Epel D. (1974). Fertilization of sea urchin eggs by a calcium ionophore, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 71, 1915.
Troen P., Nankin H. (eds.) (1977). The Testis in Normal and Infertile Men, New York, Raven Press.
Vermeulen A. (1983). Androgen secretion after age 50 in both sexes, Horm. Res., 18, 37.
Wachtel S. S. (1977). H-Y-antigen and the genetics of sex determination, Science, 198, 797.
Wilson J. D. (1978). Sexual differentiation, Ann. Rev. Physiol., 40, 279.
Wolf D. P., Quigley M. M. (eds.) (1984). Human in Vitro Fertilization and Embrio Transfer, New York, Plenum Publishing Corp.

Глава 9

Женский организм

Некоторые хронологические вехи в изучении эндокринологии размножения у особей женского пола

Дата		*Исследователи*
1672	Описаны фолликулы и желтое тело яичников	де Грааф (de Graaf)
1896	Получено первое экспериментальное доказательство активности яичников	Кнауэр (Knauer)
1896	Установлено происхождение желтого тела	Соботта (Sobotta)
1897	Высказано предположение о связи желтого тела с беременностью	Бёрд (Beard)
1900	Предотвращена атрофия матки и потеря половой активности у кастрированных самок путем подсадки яичников	Кнауэр (Knauer)
1903	На кроликах показана возможность прерывания беременности на ранней стадии путем удаления желтого тела	Френкель (Fraenkel)
1905	Предложена концепция эндокринной функции плаценты	Халбан (Halban)
1910	Получено первое доказательство эндокринной активости желтого тела	Ансель (Ancel) и Боуин (Bouin)
1912	Описана атрофия гонад после гипофизэктомии	Ашнер (Aschner)
1927	В моче беременных женщин обнаружен хорионический гонадотропин	Ашгейм, Цондек (Ascheim, Zondek)
1928	Открыт пролактин	Штрикер (Stricker) и Грютер (Grüter)
1919—1930	В трех разных лабораториях выделены кристаллические эстрогены	Дойси (Doisy), Бутенандт (Butenandt), Марриан (Marrian)

1918–1930	Разработан биологический метод оценки активности экстрактов желтого тела; на крольчихах показана возможность предотвращения аборта после овариэктомии на ранней стадии беременности	Корнер (Corner) и Аллен (Allen)
1932	Расшифрована структура эстрона и эстриола	Марриан (Marrian), Бутенандт (Butenandt)
	Расшифрована структура прогестерона	Бутенандт (Butenandt)
1932	Высказано предположение о регуляции секреции гипофизарных гонадотропинов по механизму обратной связи	Мур (Moore) и Прайс (Price)
1932	Высказано предположение об участии ЦНС в регуляции секреции гонадотропинов по механизму обратной связи	Холвег (Hohlweg), Юнкманн, (Junkmann)
1935	Выделен 17 β-эстрадиол	Дойси (Doisy) и др.
1936	Получены синтетические эстрогены (стильбены)	Доддс (Dodds)

Подобно семенникам, яичники имеют две функции. Во-первых, они вырабатывают яйцеклетки и, во-вторых, продуцируют ряд гормонов — стероидов и полипептидов, которые играют важную роль в развитии и поддержании функции структур, необходимых для продолжения рода. К последним относятся сами органы размножения, включая беременную и небеременную матку, вторичные половые образования и молочные железы. На рис. 9.1 мы попытались изобразить сложные взаимосвязи между нервной, эндокринной и периферическими тканями, имеющими отношение к репродуктивной функции у особей женского пола. Схема дает лишь общее представление о тех структурах и веществах, которые рассматриваются в данной главе; при чтении отдельных разделов целесообразно возвращаться к схеме с тем, чтобы оценить значение тех или иных компонентов в общей системе взаимосвязей.

В этой главе обсуждаются следующие вопросы (номера соответствуют таковым на рис. 9-1 в кружочках):

1. Химия, биосинтез и метаболизм эстрогенов и прогестинов.
2. Гонадотропные гормоны.
3. Влияние эстрогенов и прогестинов на органы размножения.
4. ЦНС и ось гипофиз — яичники.
5. Оогенез и гормональный контроль овуляции и менструального цикла.
6. Гормональная регуляция беременности и лактации.
7. Клеточный механизм действия половых гормонов.

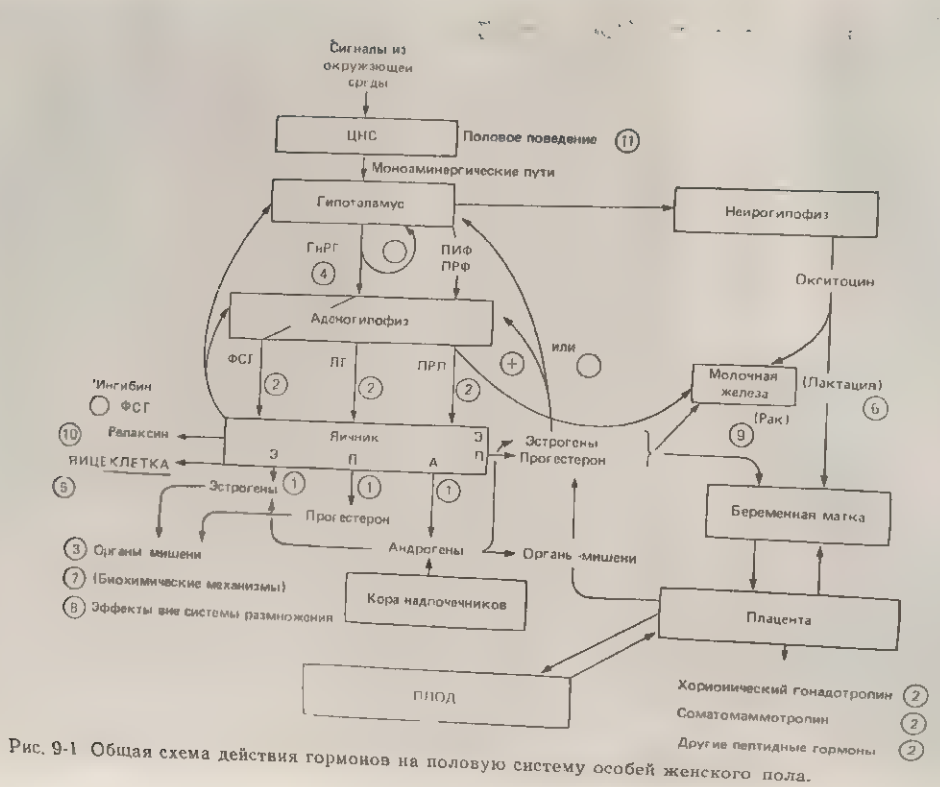


Рис. 9-1 Общая схема действия гормонов на половую систему особей женского пола.

8. Действие стероидов яичников на организм в целом (помимо размножения).
9. Стероидные гормоны и рак молочной железы.
10. Релаксин.
11. Половое поведение.

Химия, биосинтез и метаболизм эстрогенов и прогестинов

Основной эстроген, который вырабатывается яичниками многих видов животных, включая человека, — это 17β-эстрадиол. Он находится в равновесии с эстроном, который в печени и плаценте может превращаться в эстриол — главный эстроген, секретируемый плацентой. Структура этих веществ и взаимопревращения показаны на рис. 9-2. Все они обладают эстрогенными свойствами, но наиболее активным является 17β-эстрадиол. Эстриол синтезируется плацентой из стероидного предшественника (дегидроэпиандростерона), поступающего из надпочечников плода. Хотя яичники некоторых видов вырабатывают женские половые гормоны, несколько отличающиеся от перечисленных, тем не менее все природные эстрогены характеризуются ненасыщенным кольцом А, фенольной оксигруппой в положении 3 и метильной группой в положении 13. Получены и синтетические аналоги природных эстрогенов, и один из них будет рассмотрен в разделе, посвященном влиянию эстрогенов на органы, не связанные с репродукцией.

При пероральном приеме эстрогены мало активны. В основном это обусловлено их инактивацией в печени, где они конъюгируют с глюкуроновой или серной кислотой или превращаются иным путем. Некоторые нестероидные соединения, особенно производные стильбена, способны воспроизводить все физиологические эффекты природных эстрогенов даже при пероральном приеме, и это позволило использовать их в клинической практике. Структура двух наиболее широко применяемых синтетических эстрогенов — диэтилстильбестрола и гексестрола — изображена на рис. 9-2.

Желтое тело вырабатывает прогестерон, также показанный на рис. 9-2 вместе со своим экскретируемым производным — прегнандиолом. Прогестерон необходим для сохранения беременности; кроме того, он служит промежуточным соединением на пути биосинтеза надпочечниковых и половых стероидных гормонов из холестерола. На рис. 9-3 схематически представлены некоторые промежуточные продукты синтеза 17β-эстрадиола и прогестерона. Показано также, что синтез стероидов в яичнике в преовуляторную фазу протекает по Δ^5-пути и включает ароматизацию андрогенов (вырабатываемых текальными клетками) с образованием эстрогенов в клетках гранулезы.

А

17β-ЭСТРАДИОЛ ⇌ ЭСТРОН → ЭСТРИОЛ

Б

ДИЭТИЛСТИЛЬБЭСТРОЛ ГЕКСЭСТРОЛ

В

ПРОГЕСТЕРОН ПРЕГНАНДИОЛ

Г

МЕДРОКСИПРОГЕСТЕРОН НОРЭТИНОДРЕЛ

Рис. 9-2. *А—Г.* Эстрогены, синтетические эстрогены, прогестерон, синтетические прогестины.

В желтом теле обнаружены все ферменты, необходимые для выработки прогестерона и эстрогенов, а эти вещества и являются основными секретируемыми стероидами.

Превращения андрогенов в 17β-эстрадиол — это основной путь образования эстрогенов в яичнике. Действительно, при инкубации срезов яичника с ^{14}С-тестостероном образуется меченый 17β-эстрадиол. Клетки желтого тела, очевидно, дифференцируются дальше, приобретая способность вырабатывать прогестерон в качестве основного секреторного продукта, хотя продуцируют и эстрогены. Следует подчеркнуть, что различные стероид-продуцирующие клетки способны синтезировать не

только основные, но и дополнительные гормональные продукты. Например, клетки Лейдига продуцируют некоторое количество эстрогенов, а клетки коры надпочечников и яичников — андрогенов. В этой связи интересно вспомнить, что мутантные клетки семенников и яичников, подвергшиеся неоплазии и формирующие опухоли, могут специализироваться на синтезе эстрогенов или андрогенов независимо от того, появляются ли они в семеннике или яичнике.

Как и в случае андрогенов, природные эстрогены и прогестины метаболизируются в печени слишком быстро, чтобы их можно было использовать для заместительной терапии при гормональной недостаточности. С этой целью применяют некоторые синтетические вещества с эстрогенной и прогестагенной активностью (см. рис. 9-2). С химической точки зрения ни диэтилстильбестрол, ни гексестрол не являются стероидами, но их трехмерная структура такова, что они могут взаимодействовать с рецепторами эстрогенов. Подобно андрогенам, эстрогены имеют свои собственные синтетические антагонисты (такие, как тамоксифен), которые широко применяются при лечении рака молочной железы (см. ниже).

Биосинтез эстрогенов и прогестерона в общих чертах напо-

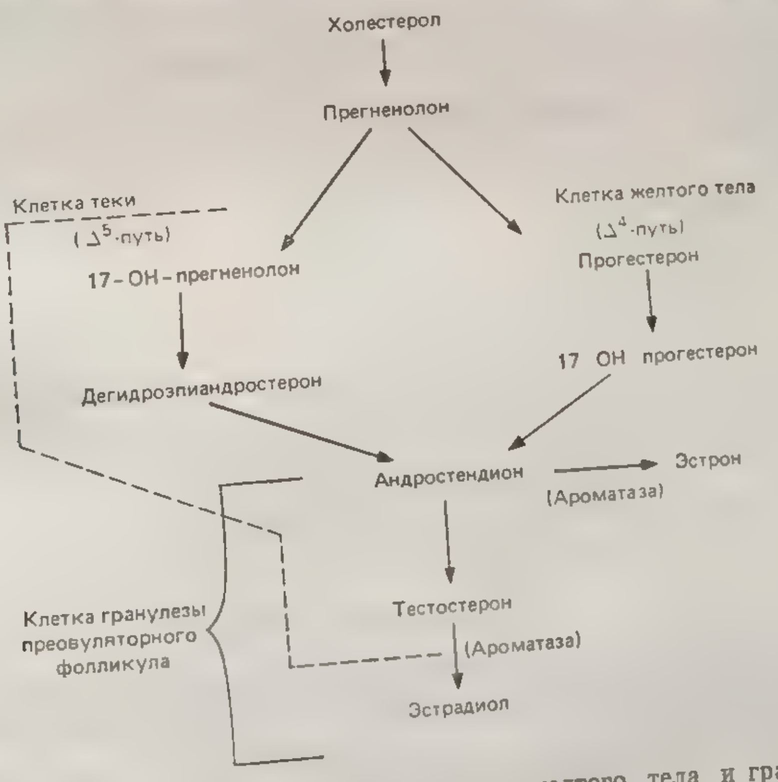


Рис. 9-3. Характер стероидогенеза в клетке теки, желтого тела и гранулезы преовуляторного фолликула. (Обсуждение в тексте.)

минает таковой других стероидных гормонов — тестостерона и гормонов коры надпочечников. Во всех клетках, продуцирующих стероидные гормоны, легко доступный предшественник хранится в виде капель эфиров холестерола. Наиболее ранние этапы стероидогенеза в этих клетках одинаковы. Они включают: 1) гидролиз эфиров холестерола; 2) отщепление боковой цепи холестерола и 3) синтез прегненолона. Эти три реакции в совокупности составляют скорость-лимитирующий этап биосинтеза стероидных гормонов, и именно они служат главным объектом непосредственного действия тропных гормонов — ЛГ, АКТГ и ангиотензина II. При длительном воздействии тропные гормоны способны индуцировать ферменты, катализирующие реакции последующих этапов биосинтеза.

Судьба прегненолона в различных клетках (надпочечников, яичников, желтого тела, клеток Лейдига) зависит от того набора стероидогенных ферментов, который в них присутствует. Путь биосинтеза стероидов из прегненолона включает серию реакций гидроксилирования, каждая из которых катализируется специфическим комплексом, содержащим цитохром Р-450. Окажется ли секретируемым стероидом эстрадиол, прогестерон, альдостерон или кортизол, зависит в конечном счете от конкретного набора ферментов, содержащих цитохром Р-450, — набора, который образуется в клетке по мере ее дифференцировки.

Схема биосинтеза эстрадиола в яичнике из прегненолона показана на рис. 9-3. Как уже упоминалось, образование эстрадиола в предовуляторной фазе менструального цикла обусловлено взаимодействием клеток двух типов: клетки теки «экспортируют» тестостерон, а соседние клетки гранулезы «импортируют» его и путем ароматизации превращают в эстрадиол.

Клетки желтого тела, хотя и могут синтезировать эстрадиол, но секретируют в основном прогестерон. Это может определяться тем, что скорость продукции прогестерона намного выше скорости его дальнейшего превращения в эстрадиол.

В печени природные стероиды конъюгируют с глюкуроновой и серной кислотами. Конъюгированные стероиды растворимы в воде, выводятся из организма с мочой и в такой форме лишены биологической активности.

Гонадотропные гормоны

Лютеинизирующий гормон (ЛГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), хорионический гонадотропин человека (ХГЧ)

Как отмечалось в гл. 5, гипофизарные ЛГ, ФСГ, ТТГ и хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) состоят из двух нековалентно связанных субъединиц — α и β. ЛГ, ТТГ и ХГЧ

имеют α-субъединицу (мол. масса 14 000) идентичной структуры, а специфичность данным гормонам придает особая для каждого из них β-субъединица. α-Субъединица ФСГ отличается от таковых других гормонов. С полипептидными цепями обеих субъединиц связаны углеводные остатки. Мол. масса ЛГ — около 28 000, ФСГ — около 33 000.

Одна из структурных особенностей ЛГ, ФСГ и ХГЧ — это остатки сиаловых кислот, расположенные на концах прикрепленных к гормонам углеводных цепей. Если убрать эти сахара с помощью фермента нейраминидазы, то период полураспада гормонов резко уменьшится. Лишенные сиаловых кислот, они узнаются, связываются и разрушаются печенью. Функция сиаловой кислоты и заключается, очевидно, в защите гормонов от инактивации печенью.

Клетки, вырабатывающие гликопротеиновые гормоны (так называемые гонадотрофы), являются исключением из правила, согласно которому каждый гипофизарный гормон секретируется отдельным типом клеток. С помощью иммуноцитохимических и электронно-микроскопических методов исследования *как* ЛГ, *так* и ФСГ обнаруживаются в одной и той же клетке гипофиза крыс, хотя в некоторых клетках содержится только тот или иной гормон. Данные о присутствии гонадотропинов в одних и тех же клетках позволяют понять причину одновременного выброса ФСГ и ЛГ в середине цикла, но не объясняют расхождений в секреции обоих гонадотропинов.

Все гипофизарные гормоны накапливаются в характерных для каждого из них гранулах. Имеются некоторые указания на существование легко мобилизуемого пула (возможно, состоящего из гранул, сосредоточенных вблизи плазматической мембраны и готовых к быстрому выбросу гормона) и второго, мобилизуемого медленнее. Высвобождение гормонов из обоих пулов стимулируется соответствующим рилизинг-фактором и (или) снятием тонического торможения. При этом в первом случае не требуется синтеза белка, однако во втором он необходим. Сопряжение между стимулом и секрецией осуществляется путем изменения концентрации кальция в секреторных клетках под действием метаболитов инозитолфосфата (Naori et al.).

Гонадотропины циркулируют в крови, по-видимому, в мономерной форме, и их можно определить либо радиорецепторным (на суспензии диспергированных клеток Лейдига), либо радиоиммунологическим методом. Эффективность последнего повышается при использовании антител, направленных к соответствующей β-субъединице гормона. Это позволяет дифференцированно определять очень сходные по структуре вещества, например ЛГ и ХГЧ.

До наступления пубертатного периода уровень гонадотропинов в крови у особей женского пола низок. Исследование резерва гонадотропинов путем определения их прироста после введения ГнРГ показывает, что у мальчиков гипофиз содержит больше ЛГ, а у девочек — ФСГ. У лиц обоего пола препубертатное увеличение уровня ФСГ опережает таковое ЛГ. Кроме того, в период полового созревания у мальчиков и девочек наблюдается импульсное изменение содержания гонадотропинов в крови, связанное со сном. В конце этого периода устанавливаются колебания, свойственные взрослым и уже не связанные со сном. В постменопаузе или после кастрации уровень гонадотропинов, особенно ФСГ, резко возрастает, хотя колебательный характер их секреции сохраняется.

В элиминации гонадотропинов из крови участвуют печень и почки. Период полураспада ЛГ составляет 12—45 мин, а ФСГ — 12 мин. ХГЧ циркулирует в крови гораздо дольше; его период полураспада достигает нескольких часов. Роль сиаловой кислоты в элиминации гормонов уже упоминалась. Хотя с мочой выводится всего 10% синтезируемого ЛГ, тем не менее его экскреция служит надежным показателем суммарной секреторной активности гипофиза.

ФСГ играет существенную роль в физиологии обоих полов, поскольку действует на соматические клетки (клетки гранулезы, клетки Сертоли), контролирующие микросреду, в которой развиваются и созревают соответствующие зародышевые клетки. Эстрогены стимулируют деление клеток гранулезы, предварительно испытавших воздействие ФСГ, и совместно с ФСГ индуцируют в этих клетках ароматазу, которая превращает тестостерон в эстрадиол. Кроме того, эстрогены совместно с ФСГ участвуют в индукции рецепторов как ЛГ, так и ФСГ. Рецепторы ФСГ характерны только для клеток гранулезы, но рецепторы ЛГ обнаруживаются на клетках теки, интерстициальных клетках, клетках желтого тела, а также (иногда) на клетках гранулезы. По мере приобретения последними рецепторов ЛГ они теряют какую-то часть рецепторов ФСГ и соответственно способность реагировать на него.

Клетки гранулезы, подобно клеткам Сертоли, реагируют на ФСГ через систему цАМФ, обеспечивающую фосфорилирование ключевых ферментов цАМФ-зависимой протеинкиназой, но ни один из этих ферментов пока не идентифицирован. Участвуют ли и другие описанные в гл. 3 системы посредников в реакции клеток гранулезы на ФСГ — неизвестно. Важнейший эффект ЛГ — стимуляция выработки стероидных гормонов — осуществляется по тому же механизму, что и действие АКТГ. При действии ЛГ обнаруживается знакомый феномен резервных рецепторов, и, хотя стимуляция синтеза стероидных гормонов

может проявляться и без видимых изменений концентрации цАМФ, все же исследование протеинкиназ свидетельствует об их активации и о роли фосфорилирования белков в механизме действия гормона.

Вторая важнейшая функция ЛГ связана с овуляцией. Он стимулирует синтез прогестерона и простагландинов, принимающих участие в этом процесе (см. ниже).

Нейромедиаторы и выделение ГнРГ

Хотя нет оснований сомневаться в том, что пептидергические нейроны, продуцирующие ГнРГ, контролируются моноаминергическими нейронами, представить себе логичную схему такого контроля достаточно трудно. В регуляции выделения ГнРГ принимают участие серотонин, дофамин и норадреналин, но имеются данные и о возможной роли ацетилхолина и ГАМК. Фукс и др. (Fuxe et al.) показали, что нейроны, содержащие дофамин и ГнРГ, концентрируются в одном и том же латеральном наружном слое клеток срединного возвышения. Анализируя данные, полученные на крысах и человеке, можно с удивлением убедиться, что иногда дофамин ингибирует секрецию гонадотропинов, а в других случаях стимулирует ее. У человека вливание дофамина (либо пероральное введение L-дофа или бромкриптина) вызывает существенное снижение концентрации ЛГ и пролактина в крови. Предложена гипотетическая схема, согласно которой норадреналин и дофамин оказывают реципрокное влияние на выделение ГнРГ: норадреналин стимулирует, а дофамин ингибирует этот процесс (Yen). При продолжительном внутривенном введении дофамина человеку концентрация гонадотропинов в крови снижается. Прекращение инфузии сопровождается феноменом отдачи («овершут»), и уровень гонадотропинов становится выше исходного.

При анализе связи между эстрогенами, ГнРГ и катехоламинами следует учитывать недавно открытый класс соединений, называемых *катехолэстрогенами*. Фишман и Нортон (Fishman, Norton) описали образование катехолэстрогенов в мозговой ткани, где происходит гидроксилирование эстрогенов по второму атому углерода кольца А (рис. 9-4). Пауль (Paul) и Аксельрод (Axelrod) обнаружили, что в гипофизе и гипоталамусе концентрация катехолэстрогенов более чем в 10 раз превышает уровень эстрогенов. Любопытно, что эти катехолэстрогены, судя по результатам стандартного биологического тестирования, лишены эстрогенной активности. В то же время их структурное сходство с катехоламинами мозга настолько велико, что они метаболизируются под действием одних и тех же ферментов. Неизвестно, участвуют ли катехолэстрогены в регуляции

Рис. 9-4. Катехолэстрогены и их связь с катехоламинами.

секреции гонадотропинов по механизму обратной связи, но их действие по механизму *положительной* обратной связи представить себе нетрудно. Например, если катехолэстрогены конкурентно ингибируют фермент катехол-О-метилтрансферазу (см. рис. 9-4), то должен усиливаться эффект норадреналина на выделение ГнРГ. Если же они действуют как антиэстрогены, то должны блокировать ингибирующий (по обратной связи) эффект эстрогенов и облегчать выделение ГнРГ. Хотя до сих пор нельзя с определенностью говорить о роли катехолэстрогенов в регуляции секреции гонадотропинов, их высокая концентрация в гипоталамусе и структурные особенности не позволяют исключить такую возможность.

Пролактин (ПРЛ) и соматомаммотропин

До 1970 г. существование специфического лактогенного гормона человека оставалось сомнительным и предполагалось, что этой функцией обладает гормон роста человека (ГРЧ). Однако с получением очищенного ПРЛ и разработкой высокоспецифичного радиоиммунологического метода его определения работа по изучению этого гормона значительно ускорилась.

Пролактин (мол. масса 20 000) *синтезируется* в виде прогормона (мол. масса 40 000) лактотрофами передней доли гипофиза. Число ПРЛ-продуцирующих клеток резко возрастает во время беременности, вероятно, потому, что эстрогены стимули-

руют их рост и размножение. После установления полной *аминокислотной последовательности* овечьего и свиного ПРЛ и частичной последовательности ГРЧ стало очевидным, что ПРЛ, ГРЧ и ПЛЧ (плацентарный лактоген человека) содержат много гомологичных последовательностей, указывающих на эволюционное родство этих гормонов.

Наиболее характерной особенностью *регуляции секреции пролактина* является ингибиторное влияние дофамина на этот процесс. Поскольку уровень ПРЛ в крови снижается при непосредственном введении дофамина в воротные сосуды гипофиза, ряд исследователей считают, что именно этот катехоламин и является пролактин-ингибирующим фактором, существование которого давно подозревалось. Серотонин посредством неизвестного механизма *повышает секрецию* ПРЛ. С ним связано изменение уровня ПРЛ в сыворотке во время сна. ТРГ стимулирует секрецию ПРЛ практически в той же мере, что и секрецию тиреотропина, однако далеко не все считают его истинным физиологическим пролактин-рилизинг-фактором, поскольку скорости секреции тиреотропина и ПРЛ во многих случаях различны.

Концентрация пролактина в плазме крови женщин составляет 8—10 нг/мл, а мужчин лишь ненамного ниже — 5—8 нг/мл. Физиологическая роль ПРЛ у мужчин неизвестна, хотя он принимает некоторое участие в сперматогенезе (см. гл. 8). У новорожденных обоего пола концентрация ПРЛ в крови (100—500 нг/мл) выше, чем у беременных женщин и даже кормящих грудью матерей. Однако уже через 2—3 мес концентрация этого гормона снижается до «взрослого» уровня. Причины столь высокой концентрации ПРЛ у новорожденных совершенно неизвестны.

Подобно большинству пептидных гормонов, ПРЛ при внутривенном введении сохраняется в крови очень недолго; период его полураспада составляет 15—20 мин. Как и другие гипофизарные гормоны, ПРЛ секретируется эпизодически с интервалами между пиками 30—90 мин. Выше отмечалось, что его концентрация в плазме подвержена и суточным колебаниям, достигая максимума через 6—8 ч после начала сна.

Основная *физиологическая функция* ПРЛ заключается в стимуляции секреции молока. С этих позиций вполне оправданно, что физиологическим стимулом секреции самого ПРЛ служит кормление грудью. В данном случае имеет место типичный нейроэндокринный рефлекс с нервной афферентной (от грудного соска в ЦНС) и эндокринной эфферентной (секреция пролактина) частью. Этот пример четко выявляет особенность биологии репродуктивной единицы в сопоставлении с биологией отдельной особи. Связь между ребенком и кормящей ма-

терью можно представить в виде последовательности сигналов, источником которых служит пустой желудочно-кишечный тракт новорожденного: 1) сигнал(ы) голода у ребенка; 2) крик; 3) ответный выброс окситоцина у матери; отделение молока; 4) подготовка груди к кормлению; 5) акт сосания; 6) афферентные сигналы от грудного соска, которые вызывают секрецию пролактина, стимулирующего секрецию молока, и окситоцина, обеспечивающего непрерывное его отделение; 7) интеграция этих сигналов в гипоталамусе; секреция рилизинг- и ингибирующих факторов в определенном соотношении; 8) гипофизарная секреция двух указанных гормонов; 9) насыщение ребенка, прекращение сосания и 10) восстановление скоростей секреции гормонов.

Максимальное повышение концентрации ПРЛ в сыворотке (до 200—400 нг/мл), вызываемое кормлением грудью, регистрируется примерно через 30 мин после начала стимуляции. Спустя 3—4 мес после родов, несмотря на продолжающееся кормление грудью, концентрация ПРЛ в плазме уже существенно не увеличивается. Однако непрерывное поступление ПРЛ все же необходимо для продолжения грудного вскармливания, поскольку гипофизэктомия (у животных) или фармакологическое угнетение секреции ПРЛ агонистом дофамина бромкриптином (у человека) эффективно блокирует секрецию молока в любых условиях. В то же время содержание окситоцина остается неизменным даже при длительной лактации.

Выделение пролактина может ингибировать секрецию ГнРГ и поэтому отчасти обусловливать ановуляторность циклов в период кормления грудью. Хотя физиологические концентрации ПРЛ необходимы для нормального развития и функционирования овариальных фолликулов, его количества, вызывающие лактацию, оказывают непосредственное ановуляторное действие на яичники. Поэтому широкое распространение искусственного вскармливания вместо грудного могло бы способствовать увеличению рождаемости в тех странах, где использование искусственных методов контрацепции непопулярно.

Помимо уже упомянутых условий, в которых возрастает уровень ПРЛ (введение эстрогенов, беременность, кормление грудью, сон), его секреция усиливается и при стрессе (например, гипогликемии). Однако роль ПРЛ в ответной реакции на стресс неизвестна.

Приведенные фундаментальные данные уже нашли применение в клинической медицине. Например, Францс и др. (Frantz et al.) показали, что 70% всех гипофизарных опухолей сопровождаются повышением уровня ПРЛ в сыворотке крови. Таким образом, радиоиммунологическое определение ПРЛ может оказаться очень полезным для диагностики. Другой при-

мер: у мужчин иногда возникает гинекомастия, или развитие молочных желез. Причиной этого могут быть побочные эффекты лекарственных средств, блокирующих синтез или действие дофамина (например, фенотиазинов). Гинекомастия может развиваться и спонтанно. В последнем случае с определенным успехом применяют дофамин-миметические средства (например, производное алкалоидов спорыньи — бромкриптин). Связанное с гиперпролактинемией бесплодие у женщин тоже успешно лечится соответствующими дозами бромкриптина. В настоящее время радиоиммунологическое определение ПРЛ служит рутинным методом контроля эффективности лечения.

Клеточный механизм действия ПРЛ изучен недостаточно. Чувствительные к нему клетки связывают гормон со столь высоким сродством, что для его определения используют радиолигандный метод. На ткань молочной железы ПРЛ оказывает инсулиноподобный эффект, стимулируя поглощения глюкозы и липогенез. Пролактин активирует синтез белков молока (казеина, α-лактальбумина), усиливая образование соответствующих мРНК. Синтез лактозы под действием лактозосинтетазы требует участия галактозилтрансферазы и α-лактальбумина, поэтому через повышение синтеза α-лактальбумина ПРЛ опосредованным образом стимулирует образование лактозы.

Наконец, у многих видов пролактин оказывает отчетливое влияние на поведение, что позволило назвать его «гормоном материнской любви». Однако неизвестно, какие структуры ЦНС участвуют в этом эффекте и каким путем проникает в них этот белок с мол. массой 20 000. Роль ПРЛ у особей мужского пола обсуждалась в гл. 8.

Трофобласт секретирует значительные количества другого гормона — ПЛЧ, или *соматомаммотропина*. Как уже отмечалось, ПЛЧ структурно близок как ГР (гормону роста), так и ПРЛ. С ГР его объединяет и способность вызывать определенную степень периферической инсулинорезистентности. Поскольку плоду необходимы большие количества углеводов, «отвлечение» глюкозы от периферических тканей матери и поступление ее в организм плода можно рассматривать как целесообразную реакцию. С другой стороны, те же самые соображения позволяют считать ПЛЧ в определенной мере ответственным за некоторое снижение глюкозотолерантности, которое обычно наблюдается у беременных женщин.

Действие эстрогенов и прогестинов на ткани организма

Эстрогены

Эмбриональный период

Хотя дифференцировка женских половых органов в основном определяется, по-видимому, отсутствием андрогенов, у некоторых видов и эстрогены (материнские или плода) необходимы для полного развития матки и влагалища. Если мать в критический период половой дифференцировки плода получает андрогены, прогестерон или синтетические прогестины, то у зародыша женского пола может возникнуть маскулинизация наружных половых органов.

Препубертатный период

В период детства эстрогены секретируются в настолько малом количестве, что не индуцируют развития репродуктивных органов. Активность незрелых семенников и яичников можно стимулировать экзогенными гонадотропинами. Поэтому сохранение препубертатного состояния вовсе не означает неспособность яичников реагировать на гонадотропную стимуляцию. Скорее дело заключается в отсутствии этой стимуляции. Гипофиз неполовозрелого животного — самца или самки, будучи трансплантирован в турецкое седло взрослого гипофизэктомированного животного, быстро приобретает характерную для взрослых реактивность.

Это свидетельствует о том, что отсутствие или наличие половозрелости определяется не яичниками и не гипофизом, а состоянием супрагипофизарных тканей, т. е. мозгом. Небольшие количества эстрогенов, секретируемые яичниками в препубертатном периоде, все же достаточны для ингибирования секреции гонадотропинов на уровне ЦНС. В период полового созревания происходит резкое снижение чувствительности соответствующих центров ЦНС к эстрогенам, и, следовательно, генерация ими сигнала к торможению секреции гонадотропинов требует уже гораздо большего количества эстрогенов. В результате начинается секреция гонадотропинов и устанавливается новый уровень функционирования «гонадостата» — т. е. происходит половое созревание.

Пубертатный период

Примерно за два года до начала пубертатного периода у девочек отмечается повышенный уровень андрогенов надпочечников (адренархе). Физиологическое значение этого явления не-

известно, поскольку даже в условиях недостаточности коры надпочечников половое созревание проходит нормально.

Половое созревание начинается с увеличения секреции гонадотропинов гипофизом, выполняющим «команду» гипоталамуса. Это может быть вызвано снятием ингибирующего эффекта на выделение ГнРГ — эффекта, который осуществляется, скорее всего, *мелатонином*. Его уровень снижается по мере угасания секреторной активности эпифиза (гл. 7) в начале полового созревания как женского, так и мужского организма. Остается неизвестным, только ли изменение уровня мелатонина обусловливает возникающее при этом резкое снижение чувствительности гонадолиберин-продуцирующих нейронов к торможению эстрогенами по механизму отрицательной обратной связи. В любом случае такая «перенастройка» гонадостата должна иметь место, поскольку в пубертатный период яичники секретируют возрастающие количества стероидов. Повышенная продукция эстрогенов и андрогенов яичниками в ответ на новый, более высокий уровень гонадотропинов приводит к ускорению роста и развития матки, влагалища, добавочных половых желез, наружных половых органов, таза, молочных желез, а также волос в подмышечных впадинах и на лобке. (Рост волос на теле, нередкое появление акне и некоторое понижение голоса — все это свидетельствует об участии андрогенов в процессе полового созревания у женщин.) Рост перечисленных тканей специфичен, т. е. происходит с гораздо большей скоростью, чем соматический рост, который наблюдается в данный период. Процесс полового созревания начинается в 9—10 лет, а первые менструации могут появиться в 12 или даже в 16 лет. Широкие колебания указанного срока в какой-то степени связаны с генетическими факторами, но когда бы ни проявилось менархе, должно пройти несколько месяцев, прежде чем установятся типичные регулярные овуляторные менструальные циклы, характерные для женщин в репродуктивном возрасте (см. ниже).

В США средний возраст менархе, т. е. появление первого менструального цикла, составляет 12—13 лет. Этот возраст в последнее столетие постепенно снижался, пока лет двадцать назад не стабилизировался. Считают, что основной причиной более раннего появления менархе является улучшенное питание. По непонятным причинам начало полового созревания связано с определенным отношением жировой ткани к общей массе тела. Тяжелая физическая нагрузка задерживает наступление первого менструального цикла. Сочетание физических нагрузок с ограничением диеты, которое часто имеет место у балерин, может резко повлиять на развитие системы гипоталамус — гипофиз — гонады.

Репродуктивный период (вне беременности)

В течение примерно 35-летнего репродуктивного периода у взрослых женщин продукция эстрогенов претерпевает циклические колебания, что подробнее рассматривается ниже. В целом эстрогены действуют как гормоны роста на те ткани, которые прямо или косвенно связаны с процессом размножения.

По некоторым данным, эстрогены могут оказывать местные эффекты на *яичники*, подобные тем, которые оказывает на семенники тестостерон, причем эти эффекты осуществляются путем локальной диффузии. Эстрогены стимулируют образование рецепторов прогестерона в клетках гранулезы, матки, молочных желез и других тканей. У неполовозрелых или гипофизэктомированных крыс высокие дозы эстрогенов повышают чувствительность яичников к гонадотропинам. Синергизм действия ФСГ и ЛГ на яичник проявляется в том, что они оба усиливают продукцию эстрогенов этим органом. Точно так же, как у гипофизэктомированных самцов крыс большие дозы тестостерона могут стимулировать сперматогенез, у гипофизэктомированных самок эстрогены стимулируют рост фолликулов. Имплантация таблеток эстрогенов как интактным, так и гипофизэктомированным крольчихам удлиняет период существования желтого тела.

В *матке* эстрогены стимулируют рост железистого эпителия эндометрия. Первое регистрируемое проявление этого эффекта — гиперемия и транссудация воды и солей в ткани матки. Эстрогены служат гормонами роста для гладкой мускулатуры матки и (вероятно, опосредованно) для маточных сосудов.

Эпителий *влагалища* настолько чувствителен к действию эстрогенов, что биологическое определение этих гормонов основано на исследовании вагинальных мазков. Эпителий влагалища у кастрированных или неполовозрелых самок представлен лишь двумя-тремя слоями кубовидных клеток. На высоте эструса имеется уже около 10 слоев клеток, причем ближайшие к поверхности слущиваются и ороговевают. Такие же крупные плоские клетки с маленьким ядром появляются и в вагинальных мазках женщин при стимуляции эстрогенами: исследование этих мазков имеет важное значение для анализа менструального цикла или оценки эффекта заместительной эстрогенной терапии.

Влияние эстрогенов на *молочные железы* отчетливее всего проявляется при беременности, когда железистые элементы этих органов подвергаются совместному действию эстрогенов и прогестерона. Первые стимулируют рост системы протоков, тогда как второй стимулирует рост самих желез. У небеременных животных, получающих большие дозы эстрогенов, наблюдается рост молочных желез и развитие протоков.

Функция яичников в пери- и постменопаузальном периодах

Средняя продолжительность жизни женщин в США составляет 75 лет. Если из этого срока вычесть годы до половой зрелости и после менопаузы, то получится, что только примерно половина жизни характеризуется цикличностью функции яичников и способностью к деторождению. Начиная с 15-летнего возраста и до 35 лет средняя продолжительность менструального цикла прогрессивно уменьшается. Это целиком происходит за счет укорочения фолликулярной фазы цикла; длительность лютеальной фазы в норме остается постоянной.

Примерно в 45-летнем возрасте фолликулярная фаза еще более укорачивается, а секреция гонадотропинов в середине цикла характеризуется повышенным выбросом ФСГ (но не ЛГ). Это может быть связано со снижением секреции ингибина стареющими яичниками, в которых, начиная с эмбриональной стадии и на протяжении всего репродуктивного периода, происходит атрезия фолликулов. В этом возрасте нарушается регулярность менструаций, варьирует их длительность (вследствие нерегулярности ановуляторных циклов), что сопровождается более или менее выраженными симптомами менопаузы. Секреция эстрадиола яичниками прогрессивно снижается и, наконец, его концентрация в сыворотке падает до очень низких величин: менее 20 пг/мл (норма для молодых женщин — 120 пг/мл). В перименопаузальный период, однако, женщины не полностью лишаются эстрогенов, поскольку андростендион надпочечников (и яичников) может превращаться в мышечной и жировой ткани в эстрон. Действительно у тучных женщин концентрация эстрогенов в крови может оставаться высокой, поскольку их жировая ткань способна ароматизировать большие количества андрогенов. Эстрон плохо взаимодействует с глобулином, связывающим стероидные гормоны, и поэтому присутствует в крови преимущественно в свободной, т. е. активной форме. В опытах по конкурентному связыванию с рецепторами эстрадиола показано, что эффективность связывания эстрона составляет лишь 15—20% от эффективности связывания эстрадиола. У женщин в ранней постменопаузе эстрогены, циркулирующие в крови, могут образовываться из тестостерона и андростендиона: яичники продолжают секретировать эти гормоны, хотя их способность продуцировать эстрогены уже существенно снижена. По каким-то причинам ароматизация андрогенов в периферических тканях сильнее проявляется у мужчин и женщин с поражениями печени. Это может быть связано с нарушением способности печени элиминировать инактивированный эстрон.

Многие сипмтомы менопаузы обусловлены, по-видимому, недостаточностью эстрогенов, и малые дозы последних смягча-

ют эти симптомы. Одним из наиболее ярких симптомов является нестабильность сосудистого тонуса, выражающаяся в так называемых «приливах» и ночной потливости: в основе этих явлений лежит эпизодическое расширение сосудов кожи лица и верхних конечностей. Этот симптом в той или иной степени наблюдается более чем у половины женщин в постменопаузальный период. Атрофические изменения эпителия влагалища и добавочных половых желез тоже вызывают разнообразные недомогания, которые уменьшаются при заместительной терапии эстрогенами. Другой серьезной проблемой здоровья у женщин постменопаузального возраста является *остеопороз*, при котором возникают патологические костные переломы (т. е. переломы, вызываемые даже минимальной травмой). Хотя остеопороз имеет сложные причины, в настоящее время общепринято, что существенным фактором возникновения патологии является уменьшение количества эстрогенов и что заместительные дозы эстрогенов задерживают наступление и замедляют прогрессирование данного патологического состояния.

Связь других симптомов менопаузы с недостаточностью эстрогенов менее ясна. В период менопаузы могут возникать разнообразные эмоциональные и психологические трудности, и многим женщинам необходимо определенное время, чтобы адаптироваться к ним. Очевидно, было бы упрощением считать, что причиной этих трудностей является недостаточность эстрогенов, хотя этот фактор имеет определенное значение. В основе подобных состояний лежит, вероятно, генетическая или приобретенная предрасположенность, и поэтому каждой женщине, испытывающей такого рода трудности, нужно помочь найти собственный путь их преодоления.

Вопрос о заместительной эстрогенной терапии в период менопаузы у женщин не имеет однозначного решения, поскольку преимущества такой терапии должны быть сопоставлены с риском возникновения рака эндометрия. Добавление прогестинов в течение 7—10 последних дней циклической заместительной терапии эстрогенами может уменьшить риск возникновения опухолей эндометрия. Многие серьезные врачи считают, что развитие клинически выраженного остеопороза представляет бóльшую опасность, чем заместительная эстроген-прогестиновая терапия, особенно у женщин с другими факторами риска остеопороза: хрупкое телосложение, курение, ранняя менопауза и соответствующий семейный анамнез.

Прогестерон

У взрослой небеременной женщины *перед* овуляцией фолликулы синтезируют небольшие количества прогестерона, который участвует в процессе овуляции (см. ниже). Гораздо большие

его количества секретируются желтым телом, состоящим у человека преимущественно из бывших клеток гранулезы, которые обладают множеством рецепторов ЛГ и ферментами синтеза и секреции не только эстрогенов, но и прогестерона.

У небеременных женщин прогестерон, вероятно, влияет на функционирование молочных желез, но эти эффекты недостаточно изучены. Трудно сомневаться в значении прогестерона для развития секреторного аппарата молочных желез во время беременности. Вместе с эстрогенами прогестины принимают участие в модуляции активности тех областй гипоталамуса, которые контролируют секрецию гонадотропинов. Производные прогестерона — существенный компонент контрацептивных таблеток (см. ниже).

Андрогены в женском организме

В организме здоровой женщины, как и у самок большинства видов животных, синтезируются и секретируются тестостерон и его предшественники, хотя и в гораздо меньшем количестве, чем у мужчин (250 против 7000 мкг/сут тестостерона). Средняя суммарная секреция андростендиона колеблется в пределах 1,4—1,6 мг/сут, причем 1,2 мг вырабатывают надпочечники и только 0,2—0,4 мг — яичники. Стероиды надпочечников обладают намного меньшей андрогенной активностью, чем тестостерон. Андрогены у особей женского пола поддерживают половое влечение, а также стимулируют рост волос на лобке и в подмышечных впадинах.

Продукция андрогенов у здоровых женщин колеблется в очень широких пределах. При повышении продукции андрогенов могут возникать различные проявления вирилизма — от легкого усиления роста волос на теле и лице до нарушения менструального цикла, появления акне, клиторомегалии, а также гипертрофии мышц и облысения висков. Степень вирилизма (в частности, гирсутизма) тесно коррелирует со скоростью продукции тестостерона. В некоторых районах (например, Средиземноморье) появление волос на лице и теле у женщин встречается столь часто, что на это не обращают внимания. В других же географических областях гирсутизм воспринимается как признак патологии. Подробнее этот вопрос освещен в обзоре Киршнера и др. (Kirschner et al.).

ЦНС и ось гипофиз — яичники

Деструктивные поражения ЦНС, особенно в основании мозга, могут приводить как к гипер-, так и к гипофункции яичников. Общеизвестно, что эмоциональные переживания способны

нарушать регулярность менструального цикла и отрицательно влиять на репродуктивную способность. Выяснение роли воротной системы гипофиза в передаче информации от гипоталамуса в аденогипофиз и широкое применение нейроэндокринологами стереотаксических методов исследования мозга позволили найти физиологическое объяснение некоторым прежним наблюдениям.

Не только клинические, но и многие другие подходы свидетельствуют о том, что секреция гонадотропинов контролируется сигналами, поступающими к гонадотрофам гипофиза из мозга, и что место действия эстрогенов по механизму обратной связи вполне может локализоваться в ЦНС. У хорьков, например, воздействие света вызывает состояние, известное как «постоянный эструс». Полагают, что оно обусловлено повышенной секрецией ФСГ под влиянием света. Это, конечно, очень напоминает возникновение внесезонного сперматогенеза у сезонно размножающихся животных при воздействии света.

В настоящее время, по-видимому, надежно установлена роль определенных пахучих веществ в размножении некоторых видов животных; характерные запахи оказывают значительное влияние на секрецию гонадотропинов за счет того, что чувствительные афференты посылают информацию в ЦНС, из которой затем через систему воротных сосудов гипофиза к последнему поступает гуморальный сигнал. Во всяком случае, эффект освещения предотвращается перерезкой ножки гипофиза и созданием механической преграды для регенерации перерезанных воротных сосудов.

Структура ГнРГ показана на рис. 5-1. Соединения, выделенные из гипоталамуса овцы и свиньи в чистом виде, имеют одинаковую аминокислотную последовательность, а синтетический ГнРГ по своим биологическим свойствам неотличим от природного пептида. На участие ГнРГ в механизме овуляторного выброса ЛГ указывает тот факт, что этот выброс можно предотвратить антителами к ГнРГ. Шелли и др. (Schally et al.) синтезировали и испытали многие аналоги ГнРГ. Некоторые из них обладают большей биологической активностью, чем природный гормон. Были получены и аналоги, оказавшиеся конкурентными ингибиторами ГнРГ.

Как отмечалось в гл. 8, реакция гонадотрофов на ГнРГ обеспечивается не только специфическими рецепторами и соответствующими преобразующими и эффекторными системами, но и способностью этих клеток ощущать частоту и амплитуду импульсов ГнРГ, секретируемого гипоталамусом или вводимого с помощью запрограммированного насоса. Как и у особей мужского пола, постоянное присутствие стабильных концентраций ГнРГ у особей женского пола лишает гонадотрофы чувстви-

тельности к стимуляции и эффективно «выключает» секрецию гонадотропинов. Импульсные инъекции ГнРГ, имитирующие по частоте и дозе секреторную активность гипоталамуса, могут восстанавливать половую функцию при гипогонадизме у женщин так же, как у мужчин, пока их гипофиз сохраняет способность реагировать на рилизинг-гормон.

До сих пор известен только один рилизинг-фактор гонадотропинов, хотя некоторые специалисты считают возможным существование отдельных ФСГ- и ЛГ-рилизинг-факторов. В настоящее время трудно объяснить тот факт, что в различных условиях соотношение концентраций ФСГ и ЛГ в крови неодинаково. Доказательства присутствия обоих гонадотропинов в одних и тех же клетках гипофиза, полученные недавно с помощью иммунофлуоресцентного метода, мало способствуют решению проблемы. Имеются две основные идеи, объясняющие непостоянство соотношения ФСГ и ЛГ, секретируемых в ответ на действие общего рилизинг-фактора.

Во-первых, отношение ФСГ/ЛГ может меняться в зависимости от частоты импульсов секреции ГнРГ, поскольку *уменьшение* этой частоты способствует преобладанию ФСГ в силу его более длительного периода полураспада, чем у ЛГ. Напротив, *повышение* частоты импульсов секреции ГнРГ должно было бы приводить к росту отношения ЛГ/ФСГ, поскольку оставляло бы меньше времени для элиминации ЛГ из крови. Во-вторых, существование действующего по принципу обратной связи избирательного ингибитора ФСГ (например, ингибина) могло бы менять секрецию последнего независимо от секреции ЛГ. В любом случае различная реакция питуицитов на ГнРГ объясняется, по всей вероятности, изменением секреторной активности клеток.

Как отмечалось ранее, у гипофизэктомированных животных овуляция не происходит, а у интактных особей она обусловливается секрецией ЛГ (и ФСГ?) гипофизом. Овуляцию у гипофизэктомированных животных и даже у некоторых гипофизэктомированных женщин можно вызвать введением гипофизарных гонадотропинов в нужном соотношении. Поэтому во многих экспериментах овуляция служит показателем секреции ЛГ.

У животных, в норме овулирующих только в ответ на коитус или механическое раздражение влагалища (крольчихи, кошки), овуляцию в период эструса можно вызвать электрической стимуляцией отдельных участков гипоталамуса. Если у таких животных гипофиз удалить сразу после раздражения влагалища, то овуляция не происходит, но если операцию отложить всего на один час, то она уже не препятствует овуляции. Этот сложный нейроэндокринный рефлекс у крольчих блокируется некоторыми фармакологическими средствами (например, атро-

пином, пентобарбиталом), влияющими на ЦНС. У животных с такой фармакологической блокадой электрическая стимуляция гипоталамуса вблизи гипофиза вызывает овуляцию. Аналогичные опыты по индуцируемой электрическим раздражением овуляции можно выполнять и на спонтанно овулирующих животных, которые предварительно получали блокирующие овуляцию фармакологические вещества. Электролитическое повреждение тех участков гипоталамуса, раздражение которых вызывает овуляцию, блокирует ее рефлекторную индукцию.

Неоднократно проводились опыты, в которых гипофизэктомированным животным подсаживали гипофиз в отдаленные от мозга области, например в переднюю камеру глаза или под капсулу почки. На новом месте ткань обычно реваскуляризовалась и сохраняла некоторую долю исходной способности секретировать тропные гормоны. Однако продукция ЛГ и ФСГ была недостаточной для поддержания нормальной активности половых желез. Если такой трансплантированный гипофиз вновь пересадить в турецкое седло, где в него опять прорастут воротные сосуды, то при наиболее успешной реваскуляризации у животных полностью восстановится нормальная функция гонад.

Имеются данные, что тормозное действие эстрогенов и андрогенов на секрецию гонадотропинов по механизму отрицательной обратной связи опосредуется головным мозгом. Флерко и др. (Flerko et al.) обнаружили, что разрушение гипоталамических паравентрикулярных ядер предотвращает атрофию половых желез, возникающую при введении стероидных гормонов. Произведя аутотрансплантацию маленьких кусочков ткани яичника в эту область мозга, ученые наблюдали торможение секреции гонадотропинов: видимо, трансплантат секретировал эстрогены.

Последние исследования указывают на то, что *отрицательная* обратная связь между эстрогенами и секрецией гонадотропинов реализуется следующим путем: эстрогены стимулируют выделение эндогенного опиоидного пептида — β-эндорфина, который опосредованно — модулируя высвобождение катехоламинов — ингибирует секрецию ГнРГ (Ferin). *Положительная* обратная связь между эстрогенами и секрецией гонадотропинов (определяющая овуляторный выброс ЛГ) осуществляется в основном путем прямого эффекта эстрогенов на гипофиз; определенную роль играет и возрастание выброса ГнРГ по амплитуде и частоте, однако нейрональные механизмы, участвующие в стимуляции эстрогенами секреции ГнРГ, неизвестны.

Все упомянутые выше экспериментальные данные касались секреции ФСГ и(или) ЛГ. Но обнаружено, что гипоталамус регулирует секрецию и пролактина (см. выше). При пересадке

гипофиза в отдаленные от турецкого седла области происходит *увеличение*, а не снижение секреции ПРЛ. Это можно объяснить, если принять, что гипоталамические сигналы постоянно ингибируют выделение ПРЛ, а трансплантация служит способом освобождения гипофиза от такого ингибирующего влияния.

В опытах in vitro гипофиз, инкубируемый в отсутствие ткани гипоталамуса, продуцирует больше пролактина, чем при совместной инкубации.

Введение дофамина непосредственно в воротные сосуды гипофиза или прямое добавление дофамина к передней доле гипофиза in vitro снижает секрецию ПРЛ. Поэтому дофамин считают физиологическим ПИФ, хотя недавно описан по крайней мере один пептид, обладающий активностью ПИФ (см. гл. 5).

ТРГ может служить положительным сигналом для секреции ПРЛ, однако неясно, играет ли он физиологическую роль. Имеются некоторые данные о возможном существовании специального пролактин-рилизинг-гормона, но он пока не выделен и не охарактеризован. Акт сосания приводит, вероятно, к поступлению в ЦНС сигналов, вызывающих высвобождение серотонина, вазоактивного интенстинального пептида (ВИП) и, возможно, других стимулирующих гипоталамических медиаторов.

Оогенез

Оогенез значительно отличается от сперматогенеза. В период дифференцировки яичника первичные зародышевые клетки превращаются в оогонии и первичные ооциты. В результате у 5-месячного плода человека общее число зародышевых клеток достигает $(6—7)\cdot10^6$. С этого момента начинается прогрессивное уменьшение их количества, и в конечном итоге из исходных $7\cdot10^6$ клеток не более 400 достигнут стадии овуляции на протяжении детородного периода жизни женщины. Некоторые ооциты окружаются клетками гранулезы, но многие собираются в кластеры и подвергаются атрезии. Поскольку развитие сохранившихся ооцитов остановилось на первой профазе мейоза, они не претерпевают окончательного деления, пока яйцеклетка не будет оплодотворена, и поэтому часть «остановленных» ооцитов, предназначенных к овуляции, может сохраниться до 50-летнего возраста. Остановка мейоза обусловливается, вероятно, действием одного или нескольких *факторов, ингибирующих мейоз*; они продуцируются яичниками, но пока химически не идентифицированы. Именно задержанным на много десятилетий мейозом объясняют прогрессирующее с возрастом матери увеличение хромосомных аномалий, включая и связанные с синдромом Дауна.

Статистическая вероятность встречи сперматозоида с яйцеклеткой (одна яйцеклетка против *не менее* 60 миллионов сперматозоидов в эякуляте) требует, чтобы на протяжении репродуктивного периода жизни мужчины продуцировались бы триллионы сперматозоидов. В то время как зародышевые клетки 5-месячного плода женского пола прекращают делиться, сперматогонии делятся в течение всего репродуктивного периода жизни мужчины. Если овулировавшая яйцеклетка может иметь 50-летний возраст, то возраст всех зрелых сперматозоидов составляет примерно 74 *дня*.

Оплодотворение и имплантация

После овуляции (механизм которой рассматривается ниже) яйцеклетка захватывается фимбриями фаллопиевой трубы и с помощью ресничек переносится в ампулярно-истмический отдел, где и происходит оплодотворение. Скопление клеток, окружающих овулировавшее яйцо, служит, видимо, источником необходимой гормональной информации для эпителиальных клеток, выстилающих фаллопиеву трубу.

Оплодотворенное яйцо остается в трубе примерно четыре дня. В матку оно попадает уже на стадии морулы — бластоцита, содержащего до 50 клеток. Время пребывания в фаллопиевой трубе крайне важно для последующей имплантации в эндометрий. Нормальный процесс координированного развития эндометрия и оплодотворенного яйца требует «точного» соотношения эстрогенов и прогестерона. Действие «таблеток следующего утра» (morning-after pill) — противозачаточных препаратов, содержащих большое количество стильбэстрола или же несколько меньшую дозу эстрогена в сочетании с прогестином — базируется на нарушении процессов продвижения яйцеклетки по трубе, задержки в ней, выхода развивающейся морулы в полость матки и имплантации в эндометрий.

Гормональный контроль овуляции и менструального цикла

Менструальный цикл у приматов, подобно эстральному циклу у других млекопитающих, отражает крайне сложные временные и функциональные взаимоотношения многих анатомически отдаленных друг от друга структур. Оплодотворение яйцеклетки и успешная ее имплантация полностью модифицируют эти циклы, и в этом участвуют не только многие структуры одной особи, но и партнер по репродуктивной единице. Цикл сводит воедино различные процессы: периодическую подготовку эндометрия к имплантации эмбриона, созревание яйцеклетки и

овуляцию, изменение активности тропных структур в мозге и гипофизе, контролирующих соотношение гонадотропинов, и изменение вторичных половых признаков, связанное с размножением. Координация перечисленных процессов во многом достигается строго регламентированными по времени колебаниями скоростей продукции и секреции ряда гормонов. Благодаря применению радиоиммунологических методов в последнее время появилась возможность исследования уровня пептидных и стероидных гормонов в крови и их корреляции с морфологией эндометрия, созреванием овариальных фолликулов, овуляцией, формированием желтого тела и менструацией.

Общепринято, что секреция гонадотропинов регулируется двумя отдельными «центрами» гипоталамуса: 1) «тоническим» центром, который контролирует более или менее постоянную секрецию гонадотропинов, и 2) «циклическим», который связан с периодическим выбросом очень больших количеств ЛГ и ФСГ в середине цикла. Эта концепция основана на экспериментах, проведенных на крысах. Убедительные доказательства такой же организации функций гипоталамуса у приматов отсутствуют. Все же с использованием радиоиммунологических методов была проведена серия элегантных исследований на женщинах (Van de Wiele, Speroff et al.), а также на человекообразных обезьянах (E. Knobile et al.).

Удобнее всего разделить цикл на две фазы: пре- и постовуляторную. *Преовуляторная фаза* характеризуется ростом и созреванием овариальных фолликулов и постепенным утолщением эндометрия. *Постовуляторную фазу* часто называют лютеальной, поскольку в ней доминируют рост, развитие и инволюция желтого тела. В этот период, когда матка, испытавшая воздействие эстрогенов, находится под влиянием прогестерона, железы эндометрия приобретают извилистость, откладывается гликоген, и матка анатомически и биохимически подготавливается к приему зародыша. Соответствующие структурные и функциональные изменения происходят и во влагалище. Примерно к началу овуляции в вагинальных мазках обнаруживается резкое увеличение числа крупных ацидофильных чешуйчатых клеток с маленькими темноокрашенными ядрами. При этом слизь, выделяемая шейкой матки, содержит больше воды, что способствует проникновению сперматозоидов. Позднее, во время лютеальной фазы, количество слизи уменьшается, и она становится более вязкой. Эти изменения, вероятно, играют важную роль в механизме действия некоторых противозачаточных средств.

Хотя колебания уровня гормонов можно сопоставить с изменениями в яичниках и эндометрии, трудно установить причинно-следственные отношения между всеми этими сдвигами. Од-

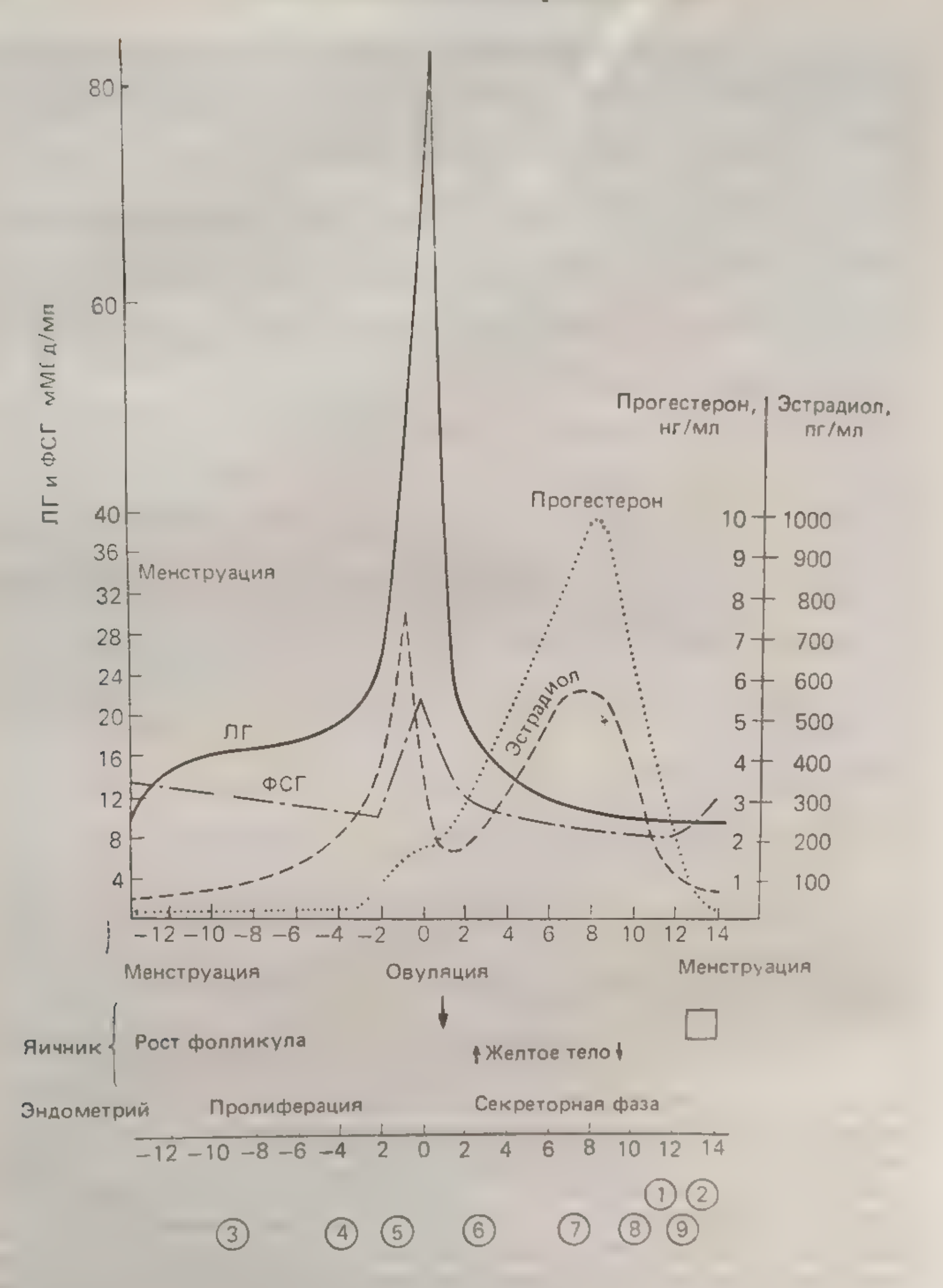


Рис. 9-5. Концентрация гормонов в крови в ходе структурных и функциональных изменений яичников и эндометрия при менструальном цикле у человека. [По Speroff L., Van de Wiele R. L. (1971). Am. J. Abstet. Gynecol., 109, 234. Использовано с разрешения.]

нако некоторые исследователи пытались оценить роль определенного гормона путем нейтрализации его эффекта с помощью специфических антител и изучения последствий этой избирательной нейтрализации. Такие работы успешно проведены с антителами к ФСГ, ЛГ и эстрогенам; они подтвердили существенную роль этих гормонов в каждой фазе цикла. Антитела к ФСГ, например, предотвращают ранние стадии роста фолликулов, антитела к ЛГ блокируют овуляцию, а антитела к эстрогенам, вводимые непосредственно перед серединой цикла, препятствуют овуляторному выбросу гонадотропинов.

Менструальный цикл

Гормональная регуляция менструального цикла у женщин отражена на рис. 9-5. Происходящие в это время процессы можно описать следующим образом (цифры соответствуют таковым на рис. 9-5, обведенным кружками):

1. По мере инволюции желтого тела происходит резкое снижение концентрации эстрогенов и прогестерона в крови.

2. В результате наблюдается небольшое, но постоянное увеличение концентрации ФСГ в крови, которое может сохраняться в течение 4—5 дней менструального кровотечения.

3. Повышенная концентрация ФСГ индуцирует развитие нескольких фолликулов. Через несколько дней один из них начинает быстро созревать, тогда как другие (из начавших развитие) подвергаются инволюции. Последнее происходит на фоне снижения уровня ФСГ и очень низкого, но, вероятно, медленно повышающегося содержания ЛГ. Отчасти это может объясняться тем, что «выбранный» фолликул секретирует эстрогены, увеличивающие его чувствительность к гонадотропной стимуляции, в то время как чувствительность «отвергнутых» фолликулов снижается. Подвергающиеся инволюции фолликулы могут продолжать вырабатывать стероиды, но физиологическое значение этой секреторной активности пока неясно. Некоторые исследователи считают их источником андрогенов и тем самым приписывают им определенную роль в поддержании либидо.

4. Созревающий фолликул вырабатывает все большие количества эстрогенов. Если рост их концентрации нейтрализовать специфическими антителами, то выброса гонадотропинов в середине цикла не произойдет. Поэтому возрастание концентрации эстрогенов рассматривают как непосредственный стимул к резкому увеличению секреции (пику) ЛГ и ФСГ, возникающему тотчас перед овуляцией.

5. То начальное повышение уровня ЛГ, которое непосредственно предшествует его выбросу в середине цикла, стимулирует синтез прогестерона клетками гранулезы. Прогестерон яв-

ляется составной частью сигнала, который по механизму положительной обратной связи вызывает выброс ЛГ. Кроме того, прогестерон принимает участие в процессе овуляции, действуя паракринным путем, поскольку он необходим для синтеза ферментов, обеспечивающих местное истончение стенки фолликула, через которую должны пройти яйцеклетка и яйценосный бугорок (cumulus oophorus).

6. В начальной фазе постовуляторного периода (когда наблюдается кратковременное падение концентрации стероидов в крови) разорванный фолликул начинает заполняться лютеальными клетками, которые имеют желтую окраску и богаты липидами. По мере заполнения полости фолликула образуются новые кровеносные сосуды. Биохимическая специализация лютеальных клеток такова, что под влиянием ЛГ, действующего через систему аденилатциклазы, они продуцируют большое и все возрастающее количество прогестерона и эстрогенов. Стимуляция стероидогенеза осуществляется главным образом на этапе, катализируемом десмолазой, т. е. так же, как и в других стероид-продуцирующих клетках, активность которых регулируется посредством цАМФ.

7. Высокие концентрации эстрогенов и прогестерона в крови ингибируют гипофизарную секрецию гонадотропинов, этот эффект опосредован главным образом воздействием на центры гипоталамуса.

8. У животных некоторых видов инволюция желтого тела вызывается определенным лютеолитическим веществом, которое образуется в матке. У приматов выработка такого вещества маловероятна, судя по тому, что желтое тело дегенерирует даже при удалении матки. Вероятно, у приматов желтое тело запрограммировано на дегенерацию в определенное время, и этот процесс не требует внешнего сигнала. Предполагается, что в лютеолизе принимают участие простагландины, в частности $ПГF_{2\alpha}$.

9. При дегенерации желтого тела происходит резкое падение концентрации эстрогенов и прогестерона в крови. При этом избирательно возрастает концентрация ФСГ, что запускает новую волну созревания фолликулов. В то же самое время в секреторном эндометрии, испытывающем теперь недостаток стероидной стимуляции, возникают геморрагические и дегенеративные изменения; накапливаясь, они приводят к кровотечению и отторжению тканевых компонентов, которые далее удаляются с менструальной кровью.

Для непосредственного изучения этого процесса трансплантаты эндометрия помещали в переднюю камеру глаза экспериментальных животных и через прозрачную роговицу вели микроскопическое наблюдение. Во время отторжения происходят

выраженное сокращение просвета артериол и замедление кровотока, кровоизлияния и скопление крови в стромальном слое. Под слизистой оболочкой участки кровоизлияний объединяются, и поверхностные слои эндометрия, лейкоциты и слизь удаляются с менструальной кровью. Последняя плохо свертывается, а ее количество за период одной менструации может колебаться от 20 до 200 мл. У 95% женщин кровотечение длится 3—7 дней. За 30—40 лет активной половой жизни женщина менструирует 300—500 раз. Принимая кровопотерю в каждом цикле в среднем за 100 мл, легко подсчитать, что общая кровопотеря за 400 циклов составляет 40 л. Эта цифра позволяет понять, почему у некоторых женщин имеется легкая или умеренная степень хронической железодефицитной анемии.

Изменения в фолликулах яичника в ходе менструального цикла

На уровне целостного организма здоровой женщины менструальный цикл можно представить как колебания концентраций гормонов в крови и морфологические изменения в эндометрии. При таком феноменологическом подходе, однако, недооценивается значение событий, происходящих в *овариальном фолликуле*. Действительно, нельзя отрицать точку зрения, согласно которой «главным режиссером» цикла является программа овариального фолликула, а все остальное — это лишь реакция на последовательные «инициативы», исходящие из развивающегося фолликула. Митотическая и биосинтетическая активность клеток гранулезы (являющихся аналогами клеток Сертоли в семенниках) и стероид-продуцирующих клеток теки (подобных клеткам Лейдига) лучше корреллирует с меняющейся концентрацией гонадотропинов и стероидов в *антральной жидкости фолликулов*, чем в системной крови (McNatty).

По ходу фолликулярной фазы, завершающейся овуляцией, и последующего формирования желтого тела клетки гранулезы подвергаются ряду изменений. Их аналогия с клетками Сертоли особенно оправдана во время ранней фолликулярной фазы, поскольку функционирование этих клеток на начальных стадиях развития фолликулов (протекающего в среде с гораздо более высокой концентрацией стероидных гормонов, чем в крови) зависит от ФСГ. На этой стадии клетки гранулезы обладают рецепторами к ФСГ, но малым количеством рецепторов к ЛГ, и делятся с высокой скоростью. Они лишены ультраструктуры, характерной для стероид-продуцирующих клеток, но быстро приобретают способность ароматизировать андрогены с образованием эстрогенов. На ранних этапах развития фолликулов продукция эстрогенов обеспечивается совместной активностью

клеток теки, синтезирующих андрогены из холестерола, и клеток гранулезы, которые используют андрогены в качестве предшественников эстрогенов. Образующиеся таким образом эстрогены вместе с ФСГ способствуют дальнейшему делению клеток гранулезы, увеличению количества рецепторов ФСГ и эстрогенов, индукции ароматазной активности (среди прочих) и увеличению числа рецепторов ЛГ. Уже в начале цикла один из фолликулов отбирается на роль доминантного, содержащего зародышевую клетку, которая в конце концов овулирует. (Хотя относительно механизма отбора существует много теорий, ни одна из них не является общепринятой). Отобранный фолликул продолжает секретировать большие количества эстрогенов, несмотря на *снижение концентрации* ФСГ *в крови,* которое обусловлено совместным действием эстрогенов по механизму отрицательной обратной связи и ингибина.

В конце фолликулярной фазы в основании фолликула наблюдается быстрая пролиферация капилляров, что обеспечивает поступление больших количеств вырабатываемых им эстрогенов в кровь. Одновременно происходит подготовка овуляции и лютеальной фазы цикла, характеризующаяся прогрессивным ростом числа рецепторов ЛГ на клетках теки и клетках гранулезы.

В середине фолликулярной фазы, когда клетки гранулезы в основном находятся под влиянием ФСГ, а клетки теки все еще продуцируют преимущественно андростендион и в меньшем количестве эстрадиол, вырабатывается ингибин-подобный белок (Channing et al.). Источником этого избирательного ингибитора секреции ФСГ, как считают, служат сами клетки гранулезы, а «мишенями» — вероятно, гонадотрофы гипофиза. Дефицит ингибина может быть причиной очень высоких концентраций ФСГ в крови женщин в постменопаузальном периоде. Клетки гранулезы продуцируют и ряд других пептидов, включая и ГнРГ-подобный белок, но их функция изучена недостаточно.

При переходе фолликулярной фазы на *поздние* стадии происходит интенсивная ароматизация андростендиона с образованием эстрогенов, которые теперь становятся преобладающими стероидами и секретируются в таком количестве, что их уровень в крови повышается. В результате по механизму положительной обратной связи индуцируется выброс ЛГ в середине цикла.

На конечном этапе фолликулярной фазы, уже непосредственно перед овуляцией, ЛГ стимулирует в клетках гранулезы продукцию *прогестерона*, который становится основным стероидом антральной жидкости. В то же самое время ЛГ ингибирует деление клеток гранулезы, вероятно, через систему

цАМФ. Собственно говоря, овуляция и происходит при участии прогестерона (см. ниже).

После овуляции оставшиеся клетки гранулезы и теки приобретают типичную структуру клеток-продуцентов стероидных гормонов. Под электронным микроскопом лютеальные клетки напоминают клетки коры надпочечников, в них отчетливо видны липидные капли, заполненные эфирами холестерола, и митохондрии, специализированные для реакций гидроксилирования стероидных гормонов. Наиболее важным стероидным продуктом лютеальных клеток является прогестерон; при этом они вырабатывают и эстрогены, причем больше, чем требовалось на поздней стадии фолликулярной фазы для индукции выброса ЛГ. (Эти эстрогены могут иметь существенное значение для имплантации.) Если зачатия не произошло, то секреция гонадотропинов в конце концов тормозится в результате совместного действия прогестерона и эстрогенов.

Клетки желтого тела под влиянием ЛГ вырабатывают простагландин $F_{2\alpha}$, причем эффект ЛГ потенцируется пролактином.

Микроокружение, создаваемое антральной жидкостью овариального фолликула, столь же специфично, как и микроокружение развивающихся мужских зародышевых клеток в семенном канальце. Ооцит на ранней стадии развития фолликула увеличивается в размерах, но его рост останавливается на первом мейотическом делении. Показано, что рост «остановленного» ооцита может происходить даже в отсутствие гонадотропинов, а именно при введении антигонадотропиновой сыворотки.

Если ооцит млекопитающих извлечь из фолликула и поместить в подходящую среду in vitro, то в нем возобновится созревание ядра. Отсюда был сделан вывод, что фолликулярная жидкость содержит ингибитор созревания ооцитов, который и удалось получить в частично очищенном виде (мол. масса 2000). Этот ингибитор продуцируется клетками гранулезы, не имеет видовой специфичности (фолликулярная жидкость одного вида животных ингибирует созревание яйцеклеток другого вида) и, по-видимому, не связан со стероидогенезом в яичниках.

При описании клеток Сертоли отмечалось, что они проходят сложный жизненный цикл: у эмбриона эти клетки продуцируют фактор, ингибирующий мюллеров проток, далее они приобретают чувствительность к ФСГ и, наконец, к тестостерону. Клетки гранулезы в развивающемся фолликуле также имеют определенный жизненный цикл. Вначале под действием ФСГ в них появляется ароматазная активность. Затем, по мере уменьшения числа рецепторов к ФСГ, они приобретают рецепторы к ЛГ. После этого в них образуются ферменты, необходимые для синтеза стероидов из холестерола. Наконец, те клетки гранулезы, которые остаются в разорвавшемся фолликуле, превращаются

в крупные, нагруженные липидами, прогестерон-секретирующие клетки. Имеются данные о том, что индукция рецепторов ЛГ на клетках гранулезы требует не только эстрадиола, но и других гормонов (инсулина, тироксина, кортизола).

Процесс *разрыва фолликулярной стенки при овуляции* изучен весьма подробно. Вначале происходит набухание фолликула в результате накопления в нем жидкости. (В отличие от старых представлений, гидростатическое давление внутри фолликула не возрастает и яйцеклетка не вылетает из фолликула как пуля из ружья.) Возникают координированные изменения кровотока (гиперемия и повышение капиллярной проницаемости в текальном слое) и межклеточного матрикса в фолликуле (общее «разрыхление» и распад межклеточных связей). Нарастание концентрации прогестерона сопровождается повышением синтеза простагландина $F_{2\alpha}$ и увеличением активности протеолитических ферментов в фолликулярной жидкости. Как синтез прогестерона, так и синтез простагландина необходимы для разрыва фолликула: при блокаде синтеза прогестерона (ингибитором стероидогенеза цианокетоном) или простагландинов (индометацином) разрыва фолликула не наступает. При этом простагландины не участвуют в стимуляции синтеза прогестерона под действием ЛГ; в данном случае эффект ЛГ опосредуется тем же механизмом, что и усиление под его влиянием синтеза андрогенов в клетках Лейдига или стимуляция под действием АКТГ синтеза кортизола в клетках надпочечников.

In vitro трудно продемонстрировать разрыв фолликула, если ЛГ добавляют на очень поздней стадии его развития. Когда этот феномен происходит in situ, он обусловливается, вероятно, совместным действием гормональных, циркуляторных и, возможно, нейрогенных факторов.

Показатели овуляции

Имеется ряд способов отличить овуляторные циклы от ановуляторных. Одним из них является серийное определение концентрации гормонов в крови с частым отбором проб, но есть и другие, технически гораздо более простые.

1. Базальная температура тела по утрам, сразу после пробуждения, в течение преовуляторной фазы цикла колеблется между 36,3 и 36,8 °С, а во время овуляции возрастает на 0,3—0,5 °С. Она держится повышенной на протяжении всей последней половины цикла и падает до исходной в период менструации. Подъем температуры связан с выбросом прогестерона. Эта простая методика позволяет определить не только овуляторность или ановуляторность цикла, но и примерное время овуляции, что может оказаться полезным для женщин с анамнезом

бесплодия. Вероятность зачатия значительно возрастает, если сосредоточить половую активность в период овуляции.

2. Одновременно с выбросом гонадотропинов в середине цикла увеличивается их концентрация в моче.

3. Непосредственно перед овуляцией можно наблюдать повышение экскреции эстрогенов с мочой.

4. В период, непосредственно предшествующий овуляции, в вагинальных мазках обнаруживаются характерные крупные, плоские, чешуйчатые клетки.

5. На 3—4-й день после овуляции повышается экскреция прегнандиола, что отражает возрастание секреции прогестерона.

6. Исследование вязкости цервикальной слизи.

Контроль фертильности и бесплодия

Когда популяции животных грозит чрезмерное увеличение, вступают в действие ограничивающие размножение факторы окружающей среды (например, недостаток пищи) или возникает феномен «стресс перенаселенности», который реализуется, вероятно, путем нарушения нормального функционирования клеток гипоталамуса, секретирующих гонадотропин-рилизинг-факторы. Люди же, желающие ограничить рождаемость, располагают разнообразными механическими, хирургическими и химическими способами предотвращения зачатия, имплантации или созревания плода.

Химические методы контроля фертильности, предложенные Пинкусом, Чангом и Роком (Pincus, Chang, Rock), оказали большое влияние на рост народонаселения и сыграли определенную роль в изменении социальных устоев. Широко применяемые стероидные контрацептивы содержат синтетические эстрогены (этинил-эстрадиол или местранол) в сочетании с прогестагенами, производными 19-нортестостерона. Эти вещества можно принимать одновременно, они используются во многих комбинациях и в широко варьирующих дозах. Пероральные контрацептивы, назначаемые в настоящее время, содержат гораздо меньшие дозы эстрогенов и прогестинов, чем те, которые прописывались ранее. Судя по накапливающимся данным, у них меньше побочных эффектов, но исключить все нежелательные последствия их применения все же не удалось. Женщины, относящиеся к группам риска в отношении тромбоэмболической болезни, ишемической болезни сердца или других заболеваний (например, заядлые курильщицы или лица старше 30 лет), должны пользоваться иными способами предупреждения беременности для уменьшения частоты опасных побочных эффектов. С другой стороны, последние публикации свидетельствуют о том, что таблетки могут действовать и положительно, снижая,

например, частоту анемии и возникновение опухолей эндометрия.

Трудно точно описать механизм действия пероральных контрацептивов, поскольку противозачаточный эффект двух разных доз одного и того же вещества может иметь различные механизмы. Эти соединения могут влиять: 1) на гипоталамо-гипофизарный секреторный аппарат, 2) на яичники, 3) на фаллопиевы трубы, 4) на транспорт сперматозоидов к месту оплодотворения (их капаситацию), 5) на эндометрий и 5) на секреторные железы шейки матки.

Эстрогены нарушают развитие фолликулов, тормозя секрецию ФСГ, а сочетание эстрогенов и прогестинов предотвращает овуляторный выброс гонадотропинов, действуя, вероятно, на гипоталамическом или непосредственно на гипофизарном уровне. Компоненты некоторых таблеток прямо воздействуют на яичники, ингибируя стероидогенез. Таблетки, содержащие малые дозы эстрогенов, могут подавлять фертильность, несмотря на сохранение овуляции: они вызывают такое состояние эндометрия, которое исключает имплантацию, меняют время прохода яйцеклетки по фаллопиевой трубе или увеличивают слой цервикальной слизи, что делает ее менее проницаемой для сперматозоидов. Все эти эффекты легко обратимы и исчезают после прекращения приема противозачаточных препаратов.

Механические средства предупреждения беременности, такие, как презервативы (кондомы) и колпачки (диафрагмы), со статистической точки зрения менее эффективны, чем стероидные контрацептивы, но их применение не связано с риском нежелательных побочных эффектов, например, тромбоэмболий, которые наблюдаются у небольшого процента женщин, пользующихся таблетками. Поскольку общее число таких женщин очень велико (много миллионов), небольшой процент может означать значительное абсолютное число. В настоящее время исследуются контрацептивы, содержащие низкие дозы стероидов, либо только прогестагены: их использование может быть связано с меньшим риском тромбоэмболических осложнений, так как последние обычно вызываются относительно высокими дозами эстрогенов. С другой стороны, сообщения о возрастании частоты воспалительных поражений тазовых органов у женщин, пользующихся внутриматочными средствами, в результате чего наступает стойкое бесплодие, умерили энтузиазм в отношении этой формы концентрации, особенно для женщин, планирующих в будущем иметь детей.

Механизм действия внутриматочных средств в отношении предупреждения беременности все еще не до конца ясен, но считается, что они вызывают асептический воспалительный процесс в эндометрии. Лейкоцитарная инфильтрация и распад лей-

Рис. 9-6. Кломифен.

коцитов с локальным высвобождением высоких концентраций лизосомных ферментов нарушает взаимодействие эндометрия с оплодотворенной яйцеклеткой. Внутриматочные средства могут стимулировать подвижность труб и тем самым менять время прохождения оплодотворенной яйцеклетки по трубе, обусловливая ее попадание в матку в неблагоприятное для имплантации время. Поступление сперматозоидов к обычному месту оплодотворения сохраняется.

Вскоре после 1900 г. фон Графенберг (von Grafenberg) предложил для контрацепции введение в полость матки металлических приспособлений (спиралей). Вначале их применение давало неудовлетворительные результаты, и они были оставлены почти на 50 лет. Использование различных пластиковых внутриматочных спиралей оказалось более перспективным. Их эффективность составила примерно 96%. Однако недавняя волна судебных исков от лиц, пострадавших из-за использования внутриматочных спиралей определенного типа, резко ограничила их применение в США.

С другой стороны, с успехом применяются *методы лечения бесплодия*. Некоторым женщинам помогают смеси гонадотропинов, которые во многих случаях индуцируют суперовуляцию и обусловливают поэтому рождение близнецов. Тенденцию к многоплодию в настоящее время удается несколько снизить путем улучшения подбора доз и схемы лечения, а также применения неинвазивных способов определения числа имеющихся преовуляторных фолликулов. Обнаружено, что вещество, получившее название *кломифен* (рис. 9-6), способно вызывать овуляцию у женщин, страдающих бесплодием. Кломифен эффективен только при нормальном функционировании гипоталамо-гипофизарного комплекса, поскольку снимает действие факторов, тормозящих выделение ГнРГ гипоталамическими нейронами.

Один из наиболее ярких примеров быстрого применения физиологических данных в клинической практике — это использование импульсного введения ГнРГ (с помощью программируемого насоса) тем страдающим отсутствием овуляции женщинам, у которых уровень гонадотропинов в крови сохраняет способность к повышению после введения рилизинг-гормона. Этот способ лечения был внедрен почти сразу же после описания Нобилем импульсной секреции ГнРГ у обезьян. В результате у многих

женщин наступала беременность. Можно полагать, что и в будущем этот метод сохранит свою эффективность при правильном подборе контингента больных.

До недавнего времени женщины с сохраненной овуляцией, но поврежденными фаллопиевыми трубами, считались безнадежно бесплодными. Однако теперь, после пионерских исследований Степто и Эдвардса, многим из таких женщин удается помочь благодаря методу *оплодотворения in vitro с переносом зародыша в матку*. Успешная работа в этой области базируется на огромном количестве полученных за 2—3 последних десятилетия фундаментальных данных по биологии размножения человека, во многом связанных с опытами на экспериментальных моделях. Рождение ребенка в результате оплодотворения яйцеклетки стало возможным благодаря разработке методов определения концентрации гормонов в крови и антральной жидкости, оценки степени созревания ооцита, индукции овуляции фармакологическими средствами, регулирования числа преовуляторных фолликулов и времени овуляции, а также наблюдения за развитием фолликула. Биология этих процессов сама по себе очень сложна, но если прибавить к этому чисто человеческие, этические и юридические проблемы, не говоря уже о необходимости сотрудничества большого числа специалистов и квалифицированной помощи надежного вспомогательного персонала, то прогресс в данной области нельзя не признать феноменальным (см. Wolf, Quigley, G. Jones).

Гормональная регуляция беременности и лактации

Значение гормонов для процесса беременности начинает проявляться еще до оплодотворения и имплантации оплодотворенной яйцеклетки: ведь все изменения в матке, характерные для менструального цикла, можно рассматривать как подготовку к этим событиям. Если оплодотворения не произойдет и продукция эстрогенов и прогестерона желтым телом снизится, то, как уже отмечалось, начнется отторжение поверхностных слоев эндометрия и кровотечение. Если же оплодотворенная яйцеклетка имплантируется в эндометрий, то продукция половых стероидов желтым телом не уменьшится и действие как эстрогенов, так и прогестерона на беременную матку продолжится.

У некоторых видов желтое тело продуцирует эстрогены и прогестерон на протяжении всей беременности, что имеет важнейшее значение для ее сохранения. У других, в том числе и у человека, желтое тело служит источником необходимых гормонов только на ранних стадиях беременности, а в дальнейшем эту функцию берет на себя плацента. Хотя желтое тело и не рассасывается, поскольку его постоянно стимулирует плацентар-

ный гонадотропин (хорионический гонадотропин — ХГ, или ХГЧ), оно не является необходимым для сохранения беременности начиная примерно с третьего ее месяца.

Сохранение функционирующего желтого тела на очень ранних стадиях беременности и, следовательно, предупреждение менструального кровотечения обусловлено тем, что хорион начинает продуцировать ХГ уже всего через две недели после овуляции. Таким образом, желтое тело не разрушается, хотя прекращение в это время стимуляции тропными гормонами гипофиза должно было бы приводить к его инволюции. Появление ХГ в моче лежит в основе многих тестов на беременность, первым среди которых был известный тест Ашгейма — Цондека. Все эти пробы базируются на том факте, что ХГ обладает биологической активностью ЛГ и поэтому способен стимулировать продукцию стероидных гормонов яичниками или тестикулярными клетками Лейдига у половозрелых животных многих видов. В настоящее время прежние биологические методы диагностики беременности уступили место иммунологическим.

По мере роста и дифференцировки плаценты она начинает синтезировать все большее количество эстрогенов и прогестерона, что сопровождается снижением секреции ХГ. Наиболее очевидные изменения при беременности заключаются в быстром увеличении матки и молочных желез, которые начнут функционировать после родов. В поддержании роста и дальнейшей дифференцировки этих органов принимают участие и эстрогены, и прогестерон. Эстрогены, играющие роль специфического гормона роста для гладкомышечных клеток матки, увеличивают ее мышечную массу, обеспечивая тем самым ее сократительную активность во время родов. Прогестерон, который обладает ингибирующим действием на гладкую мускулатуру матки, препятствует началу эффективных координированных сокращений, превращая их в отдельные слабые подергивания (фибрилляция), сохраняющиеся до возникновения необходимых сигналов к изгнанию плода.

Наряду с эстрогенами прогестерон участвует и в подготовке молочных желез к лактации, стимулируя формирование новых железистых элементов. Эстрогены и прогестерон препятствуют началу лактации во время беременности, блокируя действие пролактина на молочные железы.

Плацента представляет собой практически целую эндокринную систему, локализованную в одной ткани. По разнообразию гормональных продуктов она как бы объединяет в себе биохимические возможности гипофиза, яичников и желтого тела. Плацента вырабатывает ХГ, эстрогены (у человека, в частности, эстриол), а также прогестерон. Кроме того, она продуцирует соматомаммотропин (плацентарный лактоген), плацентарный

кортикотропин и плацентарный тиреотропин. В плаценте обнаружены и гипоталамические рилизинг-факторы.

Плод и плацента функционально столь тесно связаны друг с другом, что к ним часто применяют термин *фетоплацентарная единица*. Синтез эстриола плацентой может служить примером биохимического единства компонентов репродуктивной единицы. В самом деле, предшественником плацентарного эстриола служит дегидроэпиандростерон, который в большом количестве синтезируют надпочечники плода: экскреция эстриола матерью может даже служить показателем жизнеспособности плода. Роль материнского организма, плаценты и плода в синтезе эстриола отражена на рис. 9-7.

Судя по косвенным данным, продуцируемые плацентой стероиды действуют локально, в пределах матки. Так, на локальность эффекта прогестерона указывает тот факт, что рождение двойни (если каждый ребенок развился в отдельном роге двурогой матки) происходит с определенным временным интервалом. Как показали измерения, в местах прикрепления плаценты мембранный потенциал выше, чем в промежутках между ними. Вы-

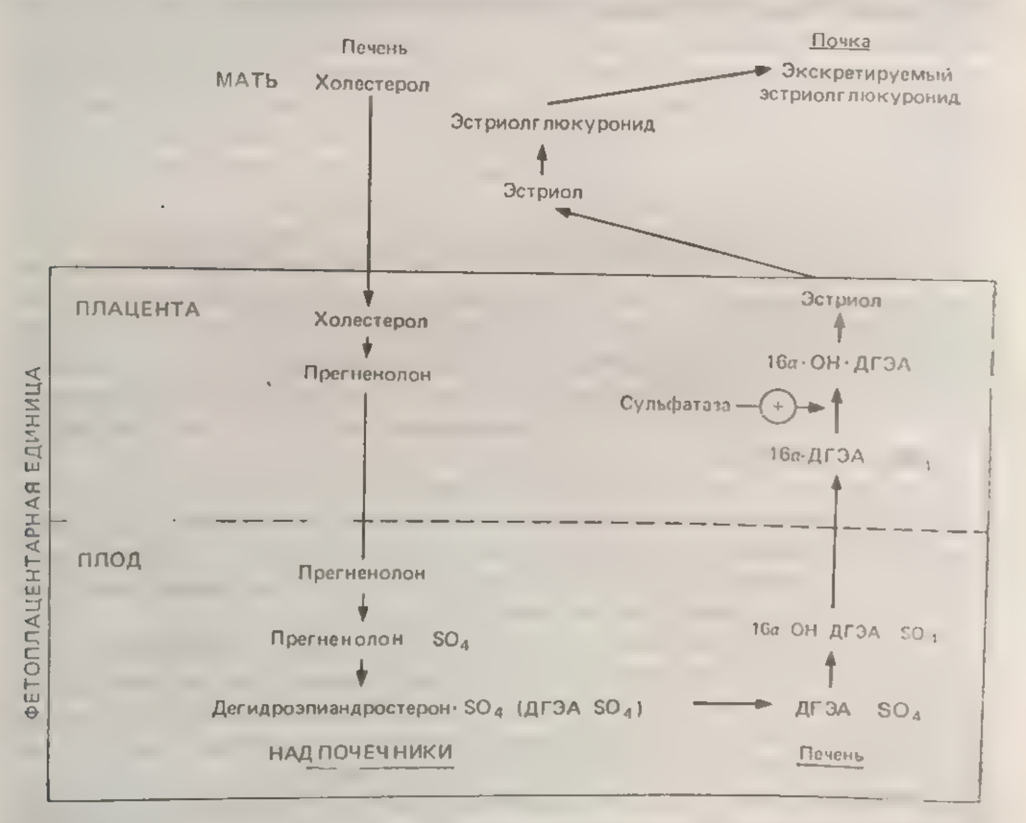


Рис. 9-7. Роль организма матери, плода и плаценты в биосинтезе эстриола.

ровнять эти потенциалы удалось путем местного применения прогестерона (Csapo).

Механизмы *родов* недостаточно ясны, и стимул, запускающий последовательность событий, называемых родами, неидентифицирован. У разных видов эти механизмы могут различаться. У крольчих, например, начало родов может быть связано *с прекращением действия прогестерона,* но нет сколько-нибудь убедительных доказательств, что началу родов у женщин должно предшествовать снижение концентрации прогестерона в крови. Компонентом сложного сигнала к началу родов может быть *стимуляция окситоцином.*

Одна из наиболее интересных гипотез выдвинута Лиггинсом (Liggins) на основании опытов на суягных овцах. Он предположил, что сигналом к началу родов служит выброс кортизола плодом. Своими изящными исследованиями Лиггинс показал, что гипофизэктомия, адреналэктомия или блокада гипофизарного воротного кровотока у плода приводят к удлинению сроков беременности, тогда как введение кортизола или АКТГ плоду с интактными надпочечниками вызывает у суягных овец преждевременные роды. Хотя, конечно, нельзя полностью переносить полученные данные на человека, интересно, что еще в 1933 г. Мальпас (Malpas) описал задержку родов у женщин, беременных анэнцефалами (плод, лишенный мозга), и даже предположил, что причиной отсроченных родов является дефект системы мозг — гипофиз — надпочечники у плода. (Это было за 50 лет до расшифровки химической структуры КРФ!) Одна из привлекательных сторон гипотезы выброса кортизола заключается в том, что кортизолу принадлежит важная роль в окончательной подготовке легких плода к внеутробной жизни (гл. 11).

Непосредственно перед родами амнион начинает вырабатывать *простагландины,* причем имеются некоторые данные, что эти вещества, особенно $ПГF_2$ и ПГЕ, могут запускать маточные сокращения. Как отмечалось в гл. 4, введение аспирина или других ингибиторов синтеза простагландинов в близкие к родам сроки увеличивает продолжительность беременности. В моче плода перед родами обнаружено вещество, которое стимулирует продукцию простагландинов в монослойной культуре клеток амниона.

Трудно объединить все эти сведения в единое целое. Наиболее важный вывод сводится к тому, что сигнал о готовности плода к рождению исходит от него самого. Выброс кортизола *плодом* может вызывать экскрецию с мочой вещества, активирующего фосфолипазу. Накопление этого соединения в амниотической жидкости в достаточно высокой концентрации способно индуцировать синтез простагландинов. Последние и активируют

миометрий. Прекращение действия прогестерона вносит свой вклад: увеличивается число контактов с малым электрическим сопротивлением между соседними клетками миометрия, что обеспечивает возможность координированных сокращений. Несомненна и роль окситоцина в этом процессе, поскольку показано, что к моменту родов возрастает число рецепторов окситоцина на клетках миометрия. Более подробно данная проблема освещена в публикациях Мак-Дональда (MacDonald) и др. (см. M. Casey et al.).

При беременности в крови возрастает концентрация и других гормонов, особенно тироксина и кортизола, причем их концентрация прогрессивно увеличивается вплоть до родов. Одновременно под действием эстрогенов ускоряется синтез специфических глобулинов, переносящих указанные гормоны, причем именно накопление этих белков в крови определяет возрастание концентрации гормонов. Что касается тиреоидных гормонов, то возрастание их концентрации обусловлено повышением активности самой щитовидной железы, судя по увеличению захвата ею индикаторных доз ^{131}I. Причиной активации может быть секреция ТТГ плацентой. Концентрация свободных тиреоидных гормонов остается той же, что и до беременности, но уровень свободного кортизола из-за сниженной скорости его элиминации несколько повышается. Имеют ли эти изменения физиологическое значение для сохранения и завершения беременности — неизвестно.

В конце беременности заметно возрастает экскреция альдостерона с мочой (Venning, Beck). Это может быть компенсаторной реакцией на потерю натрия, вызываемую прогестероном. Изложенные данные суммированы на рис. 9-8.

Уже отмечалось, что некоторые изменения, связанные с беременностью, могут служить сигналами к началу *лактации*. Наиболее существенные среди них — снижение концентраций прогестерона и эстрогенов и соответственно снятие торможения с секреции пролактина. Пролактин участвует в процессах роста и секреторной активности молочных желез, но начало отделения молока связано с нейроэндокринным рефлексом, идущим от тактильных рецепторов грудного соска при кормлении ребенка. Афферентные нервы от соска передают информацию в ЦНС, где устанавливается связь с преоптическим ядром и формируется «приказ» к выбросу гормона задней доли гипофиза — окситоцина. Этот октапептид поступает в кровоток, достигает молочной железы и, воздействуя на ее миоэпителиальные клетки, способствует отделению молока (см. гл. 6). Как уже отмечалось, окситоцин может выделяться и *в предвидении* кормления.

Лактация заметно увеличивает спонтанное потребление пищи. Показано (Kennedy), что у лактирующих крыс оно прибли-

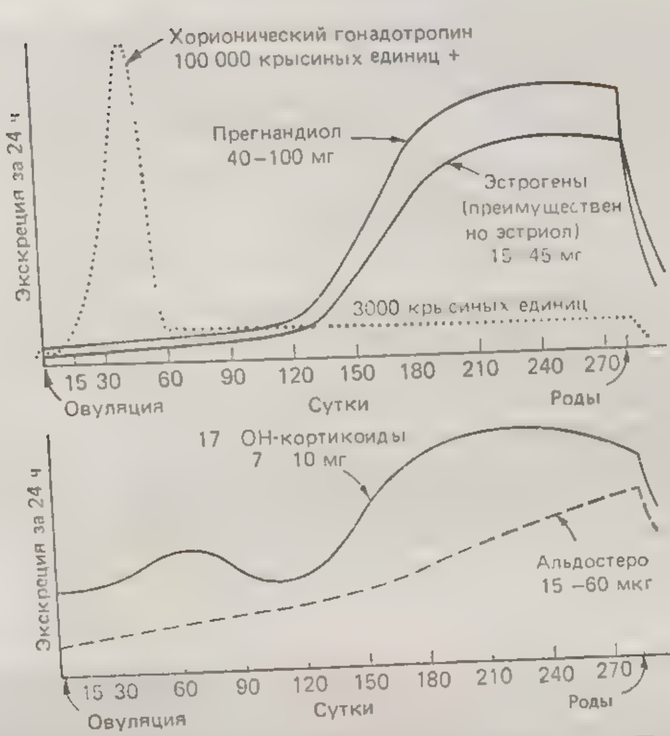


Рис. 9-8. Экскреция гормонов с мочой при беременности. [По Venning E. H., Beck J. C. (1959). In: Lloyd C. W. (ed.). Endocrinology of Reproduction, New York, Academic Press; Houssay B. A. (ed.) (1955). Human Physiology, New York, McGraw-Hill Book Co., 1955. Использовано с разрешения.]

жается к таковому у нелактирующих животных, перенесших электролитическое разрушение гипоталамических «центров» насыщения (см. гл. 16). Дело обстоит так, как если бы в процессе лактации возникало транзиторное функциональное (т. е. обратимое) «повреждение» гипоталамуса, аналогичное тому, которое вызывает ожирение у нелактирующих животных. Механизм влияния лактации на спонтанное потребление пищи неизвестен, но, вероятно, включает те же афферентные стимулы, которые возникают в грудном соске и вызывают секрецию окситоцина. Из общей биологии мы знаем об аналогичной ситуации, когда нервный сигнал, связанный с освещением, обусловливает гиперфагию у готовящихся к перелету птиц. Можно предложить и альтернативное объяснение, сводящееся к тому, что лактирующая молочная железа извлекает из организма столь большое количество глюкозы (и других субстратов), что «аппестат» (система, регулирующая периодичность приема пищи) настраивается на более высокий уровень, подобно тому, как это происходит при воздействии холода.

О значении потребления пищи и воды для подготовки к лактации свидетельствуют эксперименты на гипофизэктомирован-

ных крысах, у которых молочные железы можно подготовить к лактации с помощью введения смеси эстрогенов, прогестерона, гормона роста и пролактина. Однако при введении инсулина для этого необходимы только эстрогены и прогестерон. Отсюда следует, что роль гипофизарных гормонов может заключаться в увеличении потребления пищи. Поддержание лактации в течение оптимального срока тоже требует адекватного снабжения пищей и водой.

Инсулин и пролактин могут обладать очень сходным действием на молочные железы, поскольку, как уже отмечалось, пролактин существенно ускоряет утилизацию глюкозы и вторично стимулирует различные синтетические процессы в молочной железе, в частности образование жиров из углеводов. Секреция молока требует синтеза жира и белка клетками молочной железы, которые по своим биохимическим особенностям напоминают жировые клетки, синтезирующие жиры для запасания, а также экзокринные клетки поджелудочной железы, синтезирующие большие количества белков-предшественников пищеварительных ферментов.

Начавшаяся лактация для своего продолжения нуждается не только в адекватном потреблении организмом пищи и воды, но, по-видимому, и во многих гормонах. После гипофизэктомии лактация прекращается: в процессе принимают участие гормоны щитовидной железы и надпочечников, а также гипофизарный гормон роста.

У кормящих матерей возобновление менструаций и овуляций задерживается. Противозачаточный эффект лактации связан с высоким уровнем пролактина, который, однако, прогрессивно снижается по мере того, как прикармливание уменьшает периоды кормления ребенка грудью. Но нередко овуляции могут возобновиться еще во время лактации, и, несмотря на продолжение кормления грудью, женщина способна забеременеть. Следовательно, по крайней мере в этих условиях повышение скорости продукции эстрогенов и прогестерона еще недостаточно для прекращения лактации.

Клеточные механизмы действия гормонов репродуктивной системы

Эстрогены

Подробный обзор механизма действия эстрогенов на чувствительные клетки приведен в гл. 2, где обсуждался механизм действия стероидных гормонов в целом. На самом деле, большинство работ, лежащих в основе существующей модели дейст-

вия стероидных гормонов, выполнено именно с эстрогенами. Поэтому при анализе сведений, приведенных в данной главе, можно привлечь и материал гл. 2.

Прогестерон

Прогестерон оказывает, по-видимому, ингибирующее влияние на мускулатуру матки; его введение, например, придает миометрию относительную нечувствительность к стимулирующему действию окситоцина у кроликов (но *не* у человека!). Аналогичную рефрактерность к окситоциновой стимуляции можно вызвать путем замены среды, в которую помещены полоски мышечной ткани матки, на буфер с высокой концентрацией калия и низкой концентрацией натрия. Действительно, введение прогестерона приводит к снижению уровня калия и повышению уровня натрия в миометрии. «Успокаивающее» действие прогестерона на маточные сокращения может быть связано с изменением избирательной проницаемости мембран гладкомышечных клеток к натрию и калию. Прогестерон уменьшает и число контактов с низким электрическим сопротивлением между гладкомышечными клетками (см. Ichikawa, Bortoff). Как уже отмечалось, у животных это «успокаивающее» действие прогестерона на матку может иметь определенное значение для начала родов: перед сильными ритмическими сокращениями маточной мускулатуры требуется «высвобождение» ее из-под влияния прогестерона.

Гонадотропины

Хотя механизм действия *гонадотропинов* изучен не так хорошо, как АКТГ, последние исследования проливают определенный свет на эту проблему. При добавлении гипофизарного ЛГ или плацентарного ХГЧ к срезам желтого тела in vitro отмечается увеличенная продукция прогестерона. Эти тропные гормоны стимулируют стероидогенез в клетках-мишенях путем активации аденилатциклазы. Образующийся в результате цАМФ активирует протеинкиназу, которая усиливает синтез стероидных гормонов в основном на стадии превращения холестерола в прегненолон. Детали этого процесса до конца неясны, но, по-видимому, он аналогичен тому, что происходит при действии АКТГ на клетки надпочечников (см. гл. 11).

Мак-Лин (McLean) описал любопытный эффект пролактина на срезы молочной железы беременных крыс in vitro. Он обнаружил, что гормон повышает утилизацию глюкозы, особенно по пути образования жиров, и в то же время заметно активирует прямое окисление субстратов.

Как отмечалось выше, пролактин стимулирует синтез белков молока (казеин, α-лактальбумин) и лактозы (молочный сахар). Синтез лактозы осуществляется ферментом лактозосинтазой при участии галактозилтрансферазы и α-лактальбумина. Что касается казеина и α-лактальбумина, то их синтез требует образования специфических мРНК. Механизм, посредством которого белковый гормон вызывает избирательный синтез специфических мРНК, в настоящее время неизвестен.

Эффекты стероидов яичников вне репродуктивной системы

Метаболизм костной ткани

Если у девочек до завершения пубертатного периода возникает недостаточность эстрогенов, то может задерживаться закрытие эпифизарных зон роста. При этом путем рентгеноскопии обнаруживается отставание костного возраста, и девочки могут иметь чрезмерно высокий рост. Лечение эстрогенами в таких случаях ускоряет закрытие эпифизарных щелей. Но точно так же, как и в случае дефицита андрогенов, значительная недостаточность эстрогенов непосредственно перед фазой пубертатного роста может вызвать его остановку.

О возможной роли дефицита эстрогенов в развитии остеопороза у женщин в постменопаузальном периоде уже говорилось. Механизм, посредством которого эстрогены ингибируют резорбцию кости, пока не выяснен. Многие исследователи безрезультатно искали рецепторы эстрогенов в костных клетках. Поэтому считают, что эстрогены оказывают непрямое действие на минеральный обмен в костях. К возможным непрямым эффектам этих гормонов на кость относятся следующие: 1) стимуляция или потенцирование секреции кальцитонина, вызывающего торможение резорбции кости; 2) небольшое компенсаторное увеличение секреции паратгормона в ответ на первый эффект; 3) усиление активации витамина D в почках под действием паратгормона и как результат 4) повышение всасывания кальция в кишечнике. Биология минерального обмена в костной ткани подробнее рассматривается в гл. 17.

Прочие эффекты

К внерепродуктивным эффектам эстрогенов относится их влияние на задержку азота в организме, а также на водно-электролитный баланс. Имеются данные о некотором общем анаболическом действии эстрогенов, хотя и более слабом, чем у андрогенов. Как эстрогены, так и андрогены обладают анти-

воспалительной активностью; например, они тормозят развитие отека лапы у крысы после введения раздражающих веществ. Эстрогены способствуют и задержке натрия в организме, но эта их активность ниже, чем у стероидов надпочечников или андрогенов. У мышей местное нанесение эстрогенов на кожу вызывает ее отек, что следует учитывать при включении этих гормонов в состав косметических средств. Врачи, как правило, не поощряют такого рода самолечение сильнодействующими гормональными средствами, поскольку некоторые гормоны могут всасываться через кожу и оказывать нежелательные системные эффекты.

У экспериментальных животных большие дозы эстрогенов могут вызвать рак эстроген-зависимых тканей, например, матки. Это можно объяснить тем, что введение гормона резко стимулирует митотическую активность и деление клеток. Данный эффект, например, легко наблюдать на клетках желез эндометрия. Если стимуляция достаточно интенсивна и длительна и в результате делится большое количество клеток, то резко возрастает статистическая вероятность соматических мутаций с появлением злокачественных клеток. Недавно были опубликованы данные о высокой частоте рака влагалища среди женщин, матери которых во время беременности получали стильбэстрол.

Введение прогестерона мужчинам и женщинам приводит к потере натрия. Этот эффект более выражен при аддисонизме, т. е. недостаточности гормонов коры надпочечников. Отсюда следует, что потеря натрия обусловлена антиальдостероновым действием прогестерона. Иными словами (используя способ сравнения, обратный общепринятому), прогестерон действует как природный спиронолактон (см. гл. 11).

Синтез белков в печени

Эстрогены оказывают существенное влияние на синтез специфических белков в печени, к которым относятся:

1. Белки — переносчики гормонов (глюкокортикоидов, тиреоидных гормонов, половых стероидов).
2. Факторы свертывания крови (II, VII, IX, X).
3. Ангиотензиноген (субстрат ренина).
4. Липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП).
5. Липопротеины высокой плотности (ЛПВП).

Эти эффекты эстрогенов могут затруднять диагностику ряда заболеваний (при изменении уровня белков—переносчиков гормонов) и способствовать развитию тромбоэмболической болезни (вследствие повышения уровня факторов свертывания крови) или увеличению артериального давления (в результате повышения уровня ангиотензиногена). Влияние на синтез липопротеи-

нов высокой плотности может быть связано с меньшей предрасположенностью женщин в пременопаузальном периоде к инфаркту миокарда по сравнению с мужчинами соответствующего возраста. Высокая концентрация этих липопротеинов в крови связана со снижением риска инфаркта миокарда (см. гл. 15).

Гормоны и рак молочной железы

Для лечения рака молочной железы в пременопаузальном возрасте часто используют тот или иной способ элиминации эстрогенов или блокады их действия, поскольку опухолевые клетки нередко сохраняют способность реагировать на гормоны, свойственную здоровым клеткам. Чаще всего для этой цели удаляют яичники. При рецидиве обычно применяют антиэстроген — тамоксифен, который препятствует действию эстрогенов на клеточное деление и рост. Эстрогены индуцируют синтез рецепторов прогестерона; поэтому, когда в опухоли имеются рецепторы и эстрогенов, и прогестерона (что указывает на сохранность функции рецепторов эстрогенов), лечение вызывает ремиссию болезни у двух третей больных. Больные, опухоли которых лишены рецепторов эстрогенов, как правило, не получают облегчения от элиминации этих гормонов. В целом только около 50% опухолей, содержащих рецепторы эстрогенов, реагирует на овариэктомию. Это может объясняться тем, что присутствие рецепторов эстрогенов необязательно означает сохранение их функции, т. е. они могут быть не связаны с эффекторной системой пролиферации клеток.

Отдельные раковые клетки в культуре, будь то эстроген-зависимые или эстроген-независимые, синтезируют и секретируют разнообразные ростовые факторы (соматомедин-подобный фактор, эпидермальный фактор роста и т. д.). Эстроген-зависимые клетки синтезируют эти вещества (которые могут действовать аутокринным путем на клетки, их вырабатывающие, или паракринным — на соседние клетки) в ответ на гормональный стимул. Эстроген-независимые продуцируют ростовые факторы, по-видимому, без дополнительной стимуляции. Биологическое «поведение» отдельных опухолей может в конечном счете зависеть от природы и (или) количества собственных ростовых факторов, синтезируемых под влиянием стимула или автономно. Проблема взаимодействия раковых клеток, гормонов и ростовых факторов, по всей вероятности, займет в ближайшем будущем одно из центральных мест в современной биологии (Lipman).

Другой возможной причиной неэффективности овариэктомии при раке молочной железы можно считать неодинаковую способность иных, помимо яичников, тканей женщин (особенно жировой) синтезировать эстрогены. Превращение андрогенов

в эстрогены (ароматизация) явно лимитируется доступностью субстрата (андрогенов). Ранее для элиминации андрогенов надпочечников прибегали к гипофизэктомии или адреналэктомии. В настоящее время применяют «фармакологическую адреналэктомию», вводя *аминоглутетимид*, который тормозит отщепление боковой цепи холестерола (этап синтеза андрогенов в надпочечниках) и еще сильнее — ароматазную реакцию (ингибирование специфического ферментативного комплекса с участием цитохрома Р-450). Чтобы избежать компенсаторной гиперстимуляции надпочечников вследствие торможения аминоглутетимидом синтеза кортизола, подавляют секрецию АКТГ, вводя экзогенный кортизол.

Мы не имеем возможности подробно рассмотреть все способы лечения рака молочной железы, в том числе оперативное вмешательство, облучение и химиотерапию, равно как и гормональный статус при этом заболевании. Основные замечания, касающиеся опухолей не только молочной железы, но и эндометрия и предстательной железы, заключаются в следующем: 1) данные опухоли сохраняют некоторую чувствительность к гормонам, свойственную здоровым клеткам, что можно использовать в лечебных целях, и 2) чем лучше проводится дифференциация опухолей по их способности связывать эстрогены, андрогены, прогестерон, пролактин и гормон роста и сопоставление связывания гормонов с результатами лечения, тем более точным оказывается отбор больных для разных видов лечения и тем более велика вероятность его эффективности.

Релаксин

В 1926 г. Хайсо (Hisaw) обнаружил, что водные экстракты яичников свиньи содержат вещество, вызывающее расслабление тазовых связок и расхождение лонного сочленения у морских свинок. Это скромное наблюдение положило начало исследованиям, которые привели к тому, что за последние 60 лет были химически охарактеризованы и синтезированы *релаксины* многих видов, включая человека, а также клонированы кДНК этих белков. Эти работы составили целую главу в области молекулярной эволюции и, кроме того, могут лечь в основу метода, который позволил бы ограничить использование кесарева сечения.

Еще до очистки, идентификации и синтеза релаксина было показано, что он влияет не только на расхождение лонного сочленения (релаксация), но и размягчает шейку матки и расслабляет гладкую мускулатуру самой матки. Два первых эффекта (расхождение лонного сочленения и размягчение шейки

матки) направлены, очевидно, на облегчение прохождения плода по родовому каналу. Ингибирование маточных сокращений, с другой стороны, не должно было бы способствовать процессу родов, но этот эффект релаксина преодолевается действием уже упоминавшихся мощных стимуляторов маточных сокращений.

После установления аминокислотной последовательности релаксина человека, свиньи и крысы оказалось, что его молекула сходна с инсулином и инсулиноподобным фактором роста I (ИФР-I), или соматомедином-С (гл. 5 и 14). Все эти вещества состоят из А- и В-цепей, соединенных двумя дисульфидными мостиками, третья S—S-связь локализована внутри А-цепи. Хотя только шесть аминокислот в А-цепи (из 21—29) и восемь — в В-цепи (из 30—33) идентичны во всех трех соединениях, гипотетические трехмерные модели релаксина и ИФР-I свидетельствуют о близком сходстве их четвертичных структур со структурой инсулина; последняя была установлена с помощью рентгено-дифракционного анализа кристаллов Zn-инсулина (гл. 14). Все три вещества синтезируются в виде предшественников, содержащих соединительный пептид различной длины, который расположен между началом А-цепи и концом В-цепи и вырезается перед секрецией протеолитическими ферментами, действующими с хирургической точностью. Ферменты, вырезающие соединительный пептид из проинсулина и прорелаксина, различны (в одном случае — это трипсиноподобный фермент, в другом — химотрипсиноподобный), но каждый из них, по-видимому, эволюционировал вместе со своим субстратом. Одинаковая локализация S—S-связей, сходство процессов биосинтеза и посттрансляционного процессинга, гомология аминокислот и вероятное сходство пространственных структур — все это указывает на общее происхождение генов этих трех белков из одного гена-предшественника.

Источником релаксина давно считали желтое тело, но доказать это удалось лишь с помощью тонкого современного метода гибридизационной гистохимии. На соответственно приготовленных срезах ткани меченная ^{32}P кДНК релаксина с высокой удельной активностью гибридизуется только со своей комплементарной мРНК. Клетки, содержащие мРНК релаксина и, следовательно, активно транскрибируемый ген, можно отличить от других по связыванию радиоактивной метки. С помощью данного метода высокое содержание мРНК релаксина было найдено в желтом теле, но не в других тканях. Таким образом, доказано, что клетки желтого тела, которые издавна считают продуцентами стероидных гормонов, кроме того, синтезируют и секретируют белковый гормон.

Механизм действия релаксина наиболее подробно изучен на

гладкой мускулатуре матки, для сокращения которой необходимо фосфорилирование миозинкиназы под действием комплекса Ca^{2+}-кальмодулин. Миозинкиназа в свою очередь фосфорилирует специфический белок, связанный с сократительным белком — миозином. Сокращение миометрия вызывают многие факторы, включая ацетилхолин, окситоцин, ангиотензин и простагландины, и все они повышают концентрацию Ca^{2+} в цитозоле. Расслабление вызывается преимущественно β-адренергическими агонистами и релаксином, и оба они активируют аденилатциклазу и приводят к повышению уровня цАМФ.

Механизм расслабления гладкой мускулатуры под действием катехоламинов и релаксина служит прекрасным примером значения фосфорилирования белков для регуляции метаболизма (см. Adelstein). Две киназы — цАМФ-зависимая и Ca^{2+}-кальмодулин-зависимая — фосфорилируют миозинкиназу различными способами, хотя по одному и тому же сайту. Протеинкиназа, зависимая от цАМФ, фосфорилирует фермент и по дополнительному сайту, но двойное фосфорилирование уже не активирует миозинкиназу. Более того, двойное фосфорилирование придает ферменту рефрактерность к активации комплексом Ca^{2+}-кальмодулин, и мышца расслабляется из-за отсутствия тонической стимуляции.

Релаксин увеличивает уровень цАМФ и в хондроцитах лонного сочленения, которое содержит в основном протеогликаны и коллаген. Под влиянием релаксина хондроциты секретируют либо деполимеризующие ферменты, либо активаторы протеогликаназы или проколлагеназы, что приводит к распаду основных молекулярных компонентов связок лонного сочленения. Интересно, что релаксин, обнаруживаемый в фолликулярной жидкости и клетках яичника (теки) перед овуляцией, по-видимому, участвует в процессе овуляции, влияя на локальную продукцию в месте разрыва фолликула деполимеризующих ферментов, сходных с упомянутыми выше.

Релаксин, выявляемый в семенной жидкости, может принимать участие в активации сперматозоидов либо оказывать определенное физиологическое воздействие на женские половые пути. Однако эти предположения, равно как и другие, касающиеся возможных эффектов релаксина у небеременных женщин, остаются недоказанными. Проведены предварительные исследования, в которых аппликация свиного релаксина на шейку матки рожающей женщины несколько укорачивала продолжительность родов. Поскольку клонирован и ген релаксина человека, есть надежда, что с помощью метода рекомбинантных ДНК будет получен гормон человека и эти исследования продолжатся.

Половое поведение

В ДНК каждого вида закодирована подробная программа формирования полового поведения. У многих видов характерное для спаривания поведение сохраняется после декортикации, но не после перерезки спинного мозга. Следовательно, нервно-рефлекторные дуги половых рефлексов у животных этих видов замыкаются ниже коры, но выше спинного мозга. Такие дуги могут быть крайне сложными. Их можно представить как запрограммированные компьютеры, в которые информация поступает в форме зрительных, тактильных, обонятельных и слуховых стимулов, а решение проявляется изменением состояния многих далеко отстоящих друг от друга групп мышц и нервов, реализующих спаривание. Сюда относятся скелетные мышцы, определяющие позу и движение, а также автономная нервная система, особенно те ее отделы, которые регулируют сердечно-сосудистую систему, а также сам акт копуляции.

Считается, что в ЦНС особей обоего пола локализуется интегральная схема, опосредующая как мужское, так и женское половое поведение. Эту амбивалентность легче наблюдать у особей женского пола: самки собак с удаленными яичниками часто предпринимают свойственные самцам попытки к спариванию. У многих видов самки, получающие андрогены, обнаруживают типичное для самцов половое поведение и занимают доминирующее положение не только среди самок, но даже среди самцов. Введение андрогенов курам быстро делает их лидерами птичьего двора.

Эффекты кастрации у разных видов неодинаковы. У человека (мужчины), как уже отмечалось, кастрация в препубертатном периоде полностью снимает половую активность, тогда как постпубертатное удаление семенников может лишь несколько уменьшить ее. Овариэктомия у женщин не сказывается на половой заинтересованности и активности и не нарушает сколько-нибудь важные проявления полового поведения. Что касается животных, то у кастрированных в препубертатном возрасте самцов введение андрогенов способно полностью восстановить половую активность. То же можно сказать и об эффекте эстрогенов у кастрированных самок (если эти животные принадлежат к видам, у которых половая активность зависит от эстрогенов).

В гипоталамусе обнаружены определенные области, необходимые для центральной интеграции полового поведения. Повреждение задней области гипоталамуса у самцов и самок крыс (причем вовсе не тех областей, разрушение которых нарушает выработку и секрецию гипофизарных гонадотропинов) снимает все проявления полового поведения.

Считается, что центральные структуры, связанные с опосредованием и интеграцией полового поведения, находятся под влиянием половых стероидов. Первые доказательства локального действия половых стероидов на мозг были получены в изящных опытах Харриса (Harris), который вводил эфир синтетического эстрогена (стильбестрола) в ту область гипоталамуса овариэктомированных кошек, которая (как было установлено ранее) определяет половое поведение. Растворимость эфира стильбэстрола позволяла ему диффундировать на небольшие расстояния от места введения, но была недостаточна для проникновения в кровь с последующим действием на половые органы. После этой манипуляции кошки, которые враждебно встречали попытки самцов к спариванию, выгибая спину, шипя и крича, превращались в животных, с готовностью принимающих при встрече с самцом характерную позу. Имплантация такого же количества эстрогена в мозжечок, преоптическую область, хвостатое ядро, таламус или миндалевидное ядро в аналогичных экспериментах не восстанавливала нормального полового поведения. Повреждения гипоталамуса нарушают половое поведение животных даже в присутствии адекватного количества эстрогенов.

Хотя нервные центры полового поведения могут локализоваться в подкорковом слое, имеется множество доказательств выраженного влияния на них корковых сигналов. Это особенно справедливо для человека, некоторых других приматов и морских свинок. Янг (Young) показал, что половое поведение морских свинок, выращенных в индивидуальных клетках, отличается от такового у животных, выросших вместе. Вспомним и эксперименты Харлоу (Harlow), который выращивал детенышей обезьян не с матерью, а с чучелом и обнаружил, что взрослые самцы, воспитанные в таких условиях, при встрече с самками не проявляли к ним никакого интереса. Выросшие в тех же условиях самки не только не питали привязанности к своему потомству, но и проявляли враждебность по отношению к нему. Эти эксперименты ярко иллюстрируют возможность модуляции и модификации природных поведенческих инстинктов факторами внешней среды.

У человека сочетание моральных, социальных и культурных факторов формирует сложную корковую надстройку над базальными центральными структурами, интегрирующими половое поведение. Тот факт, что «житейские трудности» в сфере полового поведения могут возникать без всяких видимых нарушений в эндокринной или нервной системе, не подлежит сомнению. В равной степени справедливо и то, что эмоциональные факторы вызывают функциональные сдвиги в системе, связанной с репродукцией, действуя либо через локализованные в моз-

ге механизмы поведения, либо через механизмы регуляции целостности эндокринной системы. В то же время поведенческие нарушения могут быть следствием заболеваний эндокринных желез.

Замечания по поводу генеза гомосексуальности у мужчин (гл. 8) применимы и к женщинам.

Литература[1]

Abe H., Engler D., Molitch M. E. et al. (1985). Vasoactive intestinal polypeptide is a physiological mediator of prolactin release in the rat, Endocrinology, **116**, 1383.

Adelstein R. S., Pato M. D., Conti M. A. (1981). The role of phosphorylation in regulating contractile proteins, Adv. Cyclic. Nucleotide Protein Phosphorylation Res., **14**, 361.

Barraclough C. A., Wise P. M., Selmanoff M. K. (1984). A role for catecholamines in the regulation of gonadotropin secretion, Recent. Prog. Horm. Res., **40**, 487.

Beyer C. (ed.) (1979). Endocrine Control of Sexual Behavior. New York, Raven Press.

Bryant-Greenwood C. D. (1982). Relaxin as a new hormone, Endocr. Rev., **3**, 62.

Bugnon C., Bloch B., Fellman D. (1977). Cytoimmunologic study of the ontogenesis of the gonadotropic hypothalamopituitary axis in the human fetus, J. Steroid. Biochem., **8**, 565.

Casey M. L., Winkel C. A., Porter J. C. et al. (1983). Endocrine regulation of the initiation and maintenance of parturition in women, Clin. Perinatol., **10**, 709.

Channing C. P., Tsafriri A. (1977). Mechanism of action of the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone on the ovary in vitro, Metabolism, **26**, 413.

Channing C. P., Gordon W. L., Liu W.-K. et al. (1985). Physiology and biochemistry of ovarian inhibin, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **178**, 339.

Davidson J. M., Levine S. (1977). Endocrine regulation of behavior, Ann. Rev Physiol., **34**, 475.

Dickson R. B., McManaway M. E., Lippman M. E. (1986). Estrogen-induced factors of breast cancer cells partially replace estrogen to promote tumor growth, Science, **232**, 1540.

Espey L. L. (1974). Ovarian proteolytic enzymes and ovulation, Biol. Reprod., **10**, 216.

Ferin M. F., Van Vugt D., Wardlaw S. (1984). The hypothalamic control of the menstrual cycle and the role of endogenous opioid peptides, Recent. Prog. Horm. Res., **40**, 441.

Fishman J. (1983). Aromatic hydroxylation of estrogens, Ann. Rev. Physiol., **45**, 61.

Gibbons J. M., Mitnick M., Chieffo V. (1975). In vitro synthesis of TSH- and LH-releasing factors by human placenta.. Am. J. Obstet. Gynecol., **121**, 127

Gray L. A., Christopherson W. M., Hoover R. N. (1977). Estrogens and endometrial carcinoma, Obstet. Gynecol., **49**, 385.

Grumbach M. M. (1983). Control of the onset of puberty, Excerpta Med. ICS, **598**, 3.

Hsu S. I., McCormack S. M., Sanborn B. M. (1985). The effect of relaxin on cyclic adenosine 3′,5′-monophosphate concentrations in rat myometrial cells in culture, Endocrinology, **116**, 2029.

Hsueh A. J. W., Adashi E. Y., Jones P. B. S. et al. (1984). Hormonal regulation of the differentiation of cultured ovarian granulosa cells, Endocr. Rev., **5**, 76.

---

[1] См. примечание на с. 40.

Ichikawa S., Bortoff A. (1970). Tissue resistance of the progesterone-dominated rabbit myometrium, AM J. Physiol., **219**, 1763.
Jones G. S. (1984). Update on in vitro fertilization, Endocr. Rev., **5**, 52.
Jordan V. C. (1984). Biochemical pharmacology of antiestrogen action, Pharmacol. Rev, **36**, 245.
Jost A., Picon I. (1970). Hormonal control of fetal development and metabolism, Adv. Metab. Disord., **4**, 123.
Kemp B. E., Niall H. D. (1984). Relaxin, Vitam. Horm., **41**, 79.
Kirchner M. A., Zucker I. R., Jespersen D. (1976). Ovarian and adrenal vein studies in women with idiopathic hirsutism. In: James V. H. T., Serio J., Giusti G. (eds.). Endocrine Function of the Human Ovary, New York, Academic Press, pp. 443—455.
Kumar R., Cohen W. R., Silva P. et al. (1979). Elevated 1,25-dihydroxyvitamin D plasma levels in normal human pregnancy and lactation, J. Clin. Invest., **63**, 342.
Leake R. D., Waters C. B., Rubin R. T. et al. (1983). Oxytocin and prolactin responses in long-term breast feeding, Obstet. Gynecol., **62**, 565.
Leblanc H., Lachelin G. C. L., Abu-Fadil S. et al. (1976). Effects of dopamine infusion on pituitary hormone secretion in humans, J. Clin. Endocrinol. Metab, **43**, 668.
LeMaire W. T., March J. M. (1975). Inter-relations between prostaglandins, cyclic AMP, and steroids in ovulation, J. Reprod. Fertil., **22** (suppl.), 53
Leong D. A., Frawley L. S., Neill J. D. (1983). Neuroendocrine control of prolactin secretion, Ann. Rev. Physiol., **45**, 109.
Liggins G. C. (1979). Initiation of parturition, Br. Med. Bull., **35**, 145.
Longscope C., Pratt J. H., Schneider S. H. et al. (1978). Aromatization of andogens by muscle amd adipose tissue in vivo, J. Clin. Endocrinol, **46**, 146
McNatty K. P. (1978). Cyclic changes in antral fluid hormone concentrations in humans. In: Ross G. T., Lipsett M. B. (eds.). Clinics in Endocrinology and Metabolism, vol. 7, Philadelphia, W. B. Saunders Co, pp. 577—600.
McNatty K. P., Lun S., Fannin J. et al. (1983). The recruitment of an ovarian follicle for ovulation, Excerpta Med. ICS, **598**, 73.
McNeilly A. S., Robinson I. C. A. F., Houston M. J. et al. (1983). Release of oxytocin and prolactin in response to suckling, Br. Med. J., **286**, 257.
Naor Z., Molcho J., Hermon J. et al. (1984). Phospholipid turnover and GnRH action in the pituitary and gonads, Excerpta Med. ICS, **56**, 245.
Nicol C. S. (ed.) (1980). Prolactin symposium Fed. Proc, **39**, 2561—2598.
Odell W. D. (1978). Physiology of the reproductive system in women, in DeGroot L. J. (ed.). Textbook of Endocrine Physiology, New York, Grune& Stratton.
Page E. W., Villee C. A., Villee D. B. (1981). Human Reproduction Essentials of Reproductive and Perinatal Medicine, ed. 3. Philadelphia, W. B. Saunders Co.
Rondell P. (1974). Role of steroids in the process of ovulation, Biol Reprod., **10**, 199.
Salhanick H. A. (1982). Basic studies on aminoglutethimide, Cancer Res., **42**, 3315S.
Speroff L., Van de Wiele R. L. (1971). Regulation of the human menstrual cycle, Am. J. Obstet. Gynecol., **109**, 234.
Talo A., Csapo A. I. (1970). Conduction of electrical activity in late pregnant and parturient rabbit uteri, Physiol. Chem. Phys., **2**, 489.
Tepperman H. M., Bleydoun S. N., Abdul-Karim R. W. (1977) Drugs affecting myometrial contractility in pregnancy, Clin Obstet. Gynecol, **20**, 4231
Yen S. C. C., Jaffe R. B. (eds) (1978). Reproductive Endocrinology, Physiology, Pathophysiology and Clinical Management, Philadelphia, W. B. Saunders Co.
Zuckerman S., Baker T. G. (1977). The development of the ovary and the process of oogenesis. In: Zuckerman S., Weir B. J. (eds). The Ovary, vol. 1, New York, Academic Press, pp. 41—76.

Часть V

ЩИТОВИДНАЯ ЖЕЛЕЗА

Глава 10

Щитовидная железа

Некоторые хронологические вехи в изучении щитовидной железы[1]

Годы		*Исследователи*
1526	Описан кретинизм при зобе	Парацельс
1850	Описан кретинизм у лиц, лишенных щитовидой железы	Карлинг (Curling)
1856	Осуществлена тиреоидэктомия у собак	Шифф (Schiff)
1871	Описан спорадический кретинизм без зоба	Федж (Fagge)
1874	Описано кретиноидное состояние у пожилых женщин	Галл (Gull)
1880	Болезнь Галла названа микседемой	Орд (Ord)
1882—1883	Осуществлена тиреоидэктомия у человека	Ревердин, Кохер (Reverdin, Kocher)
1884	Осуществлена тиреоидэктомия у обезьян, приведшая к микседемоподобному состоянию	Хорслей (Horsley)
1888	Постулировано сходство между посттиреоидэктомическим синдромом и микседемой	Семон (Semon)
1890	Показана возможность ликвидации симптомов микседемы у человека при подсадке щитовидной железы овец	Беттанкур и Серрано (Bettancourt, Serrano)
1891	Продемонстрировано предотвращение посттиреоидэктомического синдрома у собак путем внутривенной инъекции экстрактов собственной щитовидной железы	Вассаль (Vassale)
1891—1892	Предложена заместительная терапия при микседеме у человека	Меррей, Фокс, Маккензи (Murray, Fox, Mackenzie)
1895	Обнаружено повышение основного обмена при гипертиреозе	Магнус-Леви (Magnus-Levy)
1896	Обнаружено присутствие иода в щитовидной железе	Бауман (Baumann)
1911	В щитовидной железе обнаружен дииодтирозин	Бауман (Baumann)
1915	Выделен и получен в кристаллическом виде тиреоидный гормон	Кендел (Kendall)
1927	Расшифрована структура тироксина и осуществлен его синтез	Харрингтон, Бергер (Harrington, Berger)
1942 и далее	Открыты антитиреоидные средства	Рихтер, Аствуд, Маккензи (Richter, Astwood, Mackenzie)

1952	Открыт трийодтиронин	Гросс, Питт-Риверс (Gross, Pitt-Rivers)

[1]) По Means J. H. (1960). In: Beecher H. K. (ed.). Disease and the Advancement of Basic Science, Cambridge, Massachusetts, Harvard University Press.

Щитовидная железа интересовала врачей еще на заре истории медицины. Приведенная хронологическая таблица отражает давнюю традицию сотрудничества клиницистов и экспериментаторов в решении проблем тиреоидологии. В основе интереса современных врачей к щитовидной железе лежит ряд заболеваний, которые группируются в гипотиреоидные или гипертиреоидные состояния. С накоплением знаний о физиологии и биохимии щитовидной железы появились и продолжают появляться все более тонкие методы диагностики и лечения этой группы заболеваний.

Цель настоящей главы заключается не столько в рассмотрении болезней щитовидной железы, сколько в возможно полном изложении данных об иодном цикле и его связи с физиологией этого органа у животных и человека. Любой организм следует рассматривать в единстве с окружающей средой, обеспечивающей его пищей и водой, кислородом и теплом. Зависимость от окружающей среды проявляется и в том, что организмы получают из нее следовые количества некоторых веществ, например иодида. Выяснение путей использования иодида для синтеза тиреоидных гормонов, а также роли этих гормонов в жизнедеятельности организма лежит в основе современных подходов к лечению заболеваний щитовидной железы.

Пищевые потребности в иоде

Хотя еще в древности египетские врачи назначали больным зобом высушенные морские водоросли и губки, отчетливая связь между дефицитом иода и зобом была установлена только в нашем столетии (Marine). Ученый убедительно продемонстрировал высокую частоту эндемического зоба среди жителей удаленных от моря территорий и показал, что это заболевание можно предотвратить приемом всего 2 г иодида калия дважды в год. Количество иода, необходимого для профилактики зоба, сравнительно мало: в сутки с пищей потребляется лишь 100—700 мкг иода. Когда количество иодида, используемого щитовидной железой, резко падает, возникает своеобразная «рабочая гипертрофия» железы, которая может принять форму диффузной гипертрофии и гиперплазии. Любая стимуляция деления клеток сопряжена со статистической возможностью повышения

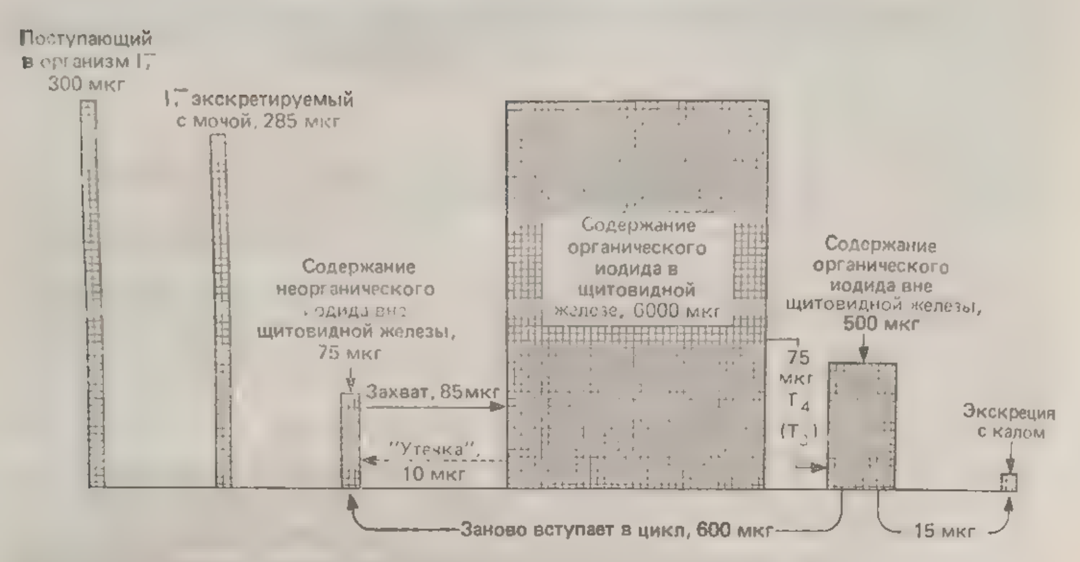


Рис. 10-1. Баланс иодида у человека.

частоты соматических мутаций; поэтому неудивительно, что в щитовидной железе, находящейся в условиях иодного дефицита, иногда возникают аденомы.

Большинство больных эндемическим зобом успешно компенсируют недостаток потребления иода и способны поддерживать нормальную секрецию тиреоидных гормонов. Однако у некоторых из них развивается гипотиреоз, и в таких случаях болезнь представляет собой, вероятно, результат совместного влияния неблагоприятных факторов внешней среды и врожденной предрасположенности. Когда эндемический зоб был распространен гораздо больше, чем теперь, не были исключением и случаи рождения детей-кретинов у женщин с зобом, обусловленным дефицитом иода. Один из наиболее эффективных методов профилактики зоба в эндемичных районах — это добавление иодида к поваренной соли.

На рис. 10-1 приведен количественный расчет иодного баланса у человека. На этой диаграмме заштрихованные области имеют единую размерность, что позволяет быстро сравнить внутритиреоидное количество иода с поступающим и выводимым из организма, а также с содержанием органического и неорганического иода в крови. Очевидно, что запасы гормона в щитовидной железе намного превышают суточную потребность в нем. Вся система довольно экономична, поскольку щитовидная железа способна адаптироваться к низкому поступлению иодида в организм, увеличивая захват I^-. Это обеспечивается повышением емкости механизма транспорта иодида, причем поскольку транспортируемый в тиреоидную клетку иодид быстро окисляется и включается в органические молекулы

(«органификация»), он эффективно «захватывается» железой. Потери иодида с калом у большинства животных незначительны, что объясняется возвращением из кишечника в печень секретируемых в желчь конъюгированных тиреоидных гормонов. У человека энтерогепатический кругооборот тиреоидных гормонов очень мал.

На рис. 10-2 показано строение некоторых биологически важных иодированных соединений.

Гипоталамо-гипофизарная регуляция секреции тиреотропного гормона (ТТГ)

Общая схема регуляции секреции ТТГ (рис. 10-3) соответствует модели, приведенной в гл. 5. Как уже отмечалось, пептидергические нейроны в преоптической области гипоталамуса синтезируют и выделяют в воротную систему гипофиза тиреотропин-рилизинг гормон (ТРГ). Определение уровня ТТГ в крови в течение суточных циклов сон — бодрствование показывает, что ТРГ, подобно другим рилизинг-факторам, эпизодически секретируется как днем, так и ночью, но пик содержания ТТГ приходится на часы, непосредственно предшествующие сну. Затем в течение ночи его уровень снижается, свидетельствуя о появлении во время сна ингибиторных влияний на секрецию ТРГ.

Помимо колебаний секреции ТРГ, *связанных со сном*, система ТРГ-ТТГ принимает участие *в реакциях на стресс* и в про-

Тирозин

Тироксин T_4
3 5 3 5 тетраиодтиронин

Монойодтирозин (МИТ

Дииод ирозин ДИ

Рис. 10-2. Тирозин и некоторые его иодированные производные.

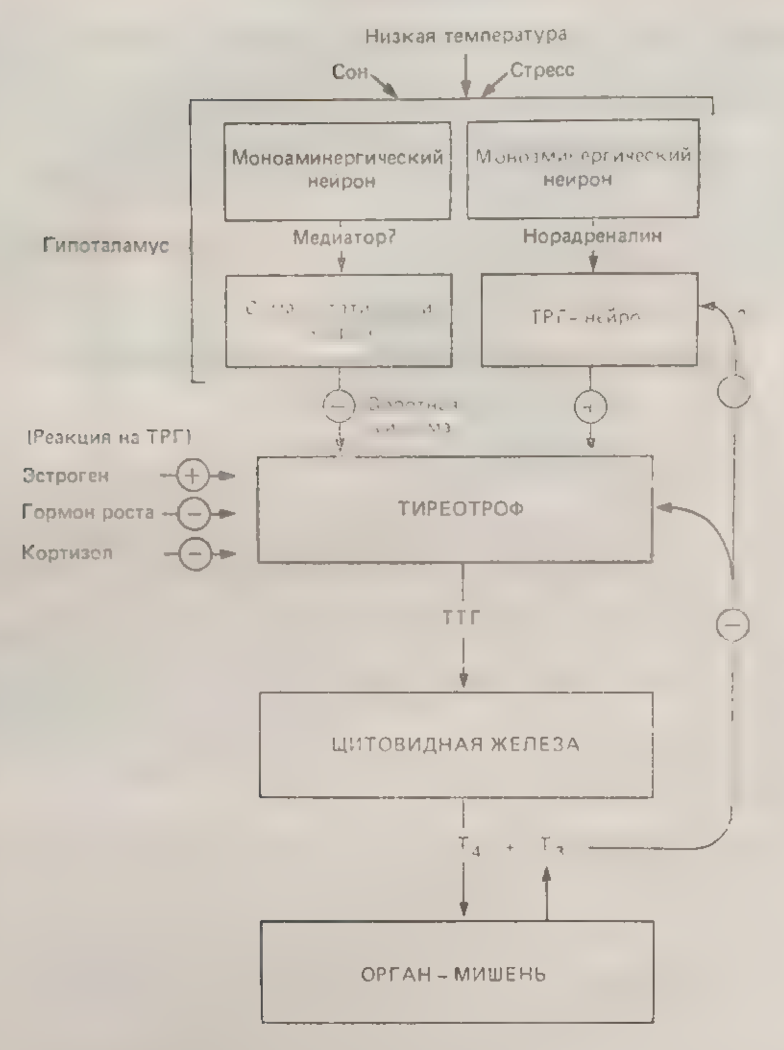


Рис. 10-3. Иерархическая схема регуляции секреции тиреоидных гормонов.

цессах *адаптации к низкой температуре.* При неспецифическом стрессе (например, травма, наркоз) секреция ТРГ ингибируется, как это характерно и для гонадотропинов. Функцию щитовидной железы уже давно связывали с адаптацией к низкой температуре; действительно, гипоталамический центр регуляции температуры расположен вблизи области, занятой ТРГ-продуцирующими нейронами. У животных повышенная продукция тиреоидных гормонов участвует в генезе адаптивного недрожательного термогенеза, но у человека повышение уровня ТТГ в ответ на воздействие холода показано только у новорожденных и маленьких детей в ходе проводимых в условиях гипотермии хирургических операций. Адаптация взрослого человека

к холоду осуществляется в основном с помощью подходящей одежды и регулирования окружающей температуры.

Хотя природа фактора, *ингибирующего* секрецию тиреотропина, окончательно не выяснена, некоторые данные указывают на то, что эту физиологическую функцию может выполнять *соматостатин*. Аримура и Шелли (Arimura, Schally) показали, что у крыс, пассивно иммунизированных антисывороткой к соматостатину, повышается как базальный уровень ТТГ, так и его реакция на введение ТРГ. Это свидетельствует о возможности тонического контроля секреции ТРГ со стороны соматостатина. Кроме того, ингибирование секреции ТТГ *дофамином* и повышение ее после введения метоклопрамида (блокирующего эффекты дофамина) указывают на физиологическую роль дофамина как фактора, ингибирующего секрецию ТТГ. Подобно тому, что происходит при торможении секреции пролактина, дофамин, вероятно, непосредственно влияет на клетки гипофиза.

Основное ингибирующее действие на секрецию ТТГ оказывает повышенная концентрация тиреоидных гормонов в крови. Механизм этого действия состоит в том, что спустя определенный лаг-период, в течение которого может происходить синтез белка, гипофизарные тиреотрофы приобретают резистентность к стимулирующему действию ТРГ. В настоящее время считают, что тормозящее действие тиреоидных гормонов по принципу обратной связи осуществляется в основном на гипофизарном уровне, хотя обнаружение связывающих участков для трийодтиронина (T_3) в гипоталамусе не позволяет отрицать регуляторного влияния тиреоидных гормонов и на секрецию ТРГ.

Реакция гипофиза на ТРГ модулируется и другими гормонами. *Эстрогены* повышают чувствительность тиреотрофов к ТРГ и усиливают секреторную реакцию ТТГ на этот фактор. *Глюкокортикоиды* и *гормон роста* ингибируют реакцию тиреотрофов на ТРГ.

Моноаминергическая нервная регуляция ТРГ-секретирующих нейронов изучена не столь подробно, как в отношении других пептидергических нейронов, но известные супрагипоталамические факторы, влияющие на секрецию ТРГ — сон, низкая температура и неспецифический стресс — действуют, по-видимому, через посредство различных нейронных цепей и с помощью разных нейромедиаторов. Наиболее важным из медиаторов, стимулирующим секрецию ТРГ, является, вероятно, норадреналин, действующий через α-рецепторы.

Как отмечалось в гл. 5, ТРГ — мощный стимулятор секреции не только ТТГ, но и пролактина. Действительно, его применяют для усиления секреции молока, если у женщины ослаблена реакция на грудное вскармливание ребенка. В то же время ТРГ не может быть ПРЛ-рилизинг-фактором, поскольку суще-

ствуют условия, при которых секреция ТТГ и ПРЛ происходит по-разному.

Открытие ТРГ — первого очищенного, идентифицированного и синтезированного in vitro гипоталамического фактора — было событием в биологии. Последующая разработка высокочувствительных методов определения этого трипептида позволила установить, что, хотя концентрация ТРГ в гипоталамусе весьма велика, более 80% его содержится во внегипоталамических отделах мозга. Большие количества ТРГ обнаружены в эпифизе. По-видимому, внегипоталамический ТРГ синтезируется именно там, где обнаруживается; во всяком случае, он сохраняется в других отделах мозга после разрушения ТРГ-продуцирующих нейронов гипоталамуса. Функция ТРГ вне гипоталамуса неизвестна; сообщалось о влиянии этого трипептида на поведенческие реакции и электрофизиологические процессы в нервной системе (см. Reichlin).

Механизм действия ТРГ на тиреотрофы включает связывание его со специфическими рецепторами и стимуляцию секреции ТТГ путем увеличения концентрации Ca^{2+} в цитозоле. Вероятно, в качестве вторых посредников в этом процессе участвуют продукты превращения полифосфатидилинозитола, судя по тому, что добавление ТРГ к клеткам гипофиза (линия GH_3) приводит к повышению в них концентрации диацилглицерола (Martin, Kowalchyk). Правда, до сих пор не доказано, что тиреотрофы реагируют на ТРГ точно так же, как клетки GH_3 (Woeler, Braverman). Стимуляция секреции ТТГ на первых порах не сопряжена с активацией синтеза белка, но длительное воздействие ТРГ в конце концов каким-то образом приводит к повышению синтеза ТТГ.

Тиреотропный гормон

Тиреотропин (ТТГ) представляет собой гликопротеин с мол. массой около 29 000. Как уже отмечалось, одна из его субъединиц идентична субъединице гипофизарного ЛГ и ХГЧ. ТТГ может влиять на *развитие* тиреоидных фолликулярных клеток, предшествующее образованию самих фолликулов в щитовидной железе. Так, Лиссицки и др. (Lissitzky et al.) показали, что тиреоидные клетки in vitro, диспергированные с помощью протеолитических ферментов, при добавлении в среду ТТГ вновь собираются в фолликулы. Этот эффект проявляется лишь через несколько часов после добавления ТТГ, и его предотвращают ингибиторы синтеза РНК и белка. Видимо, ТТГ способствует синтезу каких-то компонентов клеточной мембраны, необходимых для распознавания клетками друг друга.

Для нормального функционирования зрелой фолликулярной клетки необходима постоянная стимуляция со стороны ТТГ. В отсутствие ТТГ тиреоидные клетки сохраняют определенную способность концентрировать иодид, но синтез и секреция тиреоидных гормонов оказываются резко заторможенными. Тиреотропная стимуляция клетки осуществляется в два этапа: вначале инициируются процессы, не требующие синтеза РНК, на втором этапе происходит клеточный рост, появляется митотическая активность, и клетка делится. ТТГ, а также различные ТТГ-подобные глобулины, обладающие свойствами антител, способны вызывать гиперстимуляцию клеток щитовидной железы, т.е. продукцию и секрецию ими чрезмерного количества тиреоидных гормонов.

Рецептор ТТГ детально изучен (см. последний обзор: Rohn et al.). Его особенностью является довольно сложная структура; он состоит из двух отдельных доменов, один из которых представляет собой гликопротеин, а второй — ганглиозид (т.е. гликолипид, содержащий сиаловую кислоту). Чтобы вызвать полный биологический ответ, молекула ТТГ должна вступить в контакт с обоими доменами рецептора.

Гликопротеиновая часть рецептора состоит из тетрамера (мол. масса около 160—180 К) и имеет сходство с рецептором инсулина (подробнее см. гл. 14), а также молекулой IgG, которая содержит тяжелые и легкие цепи, соединенные S—S-связями. Молекула IgG функционирует как рецептор лимфоцитов. Многие авторы подчеркивают, что сходство химического строения различных рецепторов может иметь эволюционное значение.

Важно отметить, что в головном мозге отсутствует ганглиозид, способствующий связыванию ТТГ с мембраной тиреоидных клеток (т.е. он является тканеспецифичным). Встраивание этого специфического ганлиозида в лишенные его мембраны клеток щитовидной железы восстанавливает их способность связывать ТТГ и продуцировать в ответ цАМФ.

ТТГ-рецепторный комплекс, образующийся в результате связывания ТТГ, вызывает ответные биологические реакции с помощью не менее четырех внутриклеточных посредников: цАМФ, инозитолтрифосфата, диацилглицерола и комплекса Ca^{2+}-кальмодулин (рис. 10-4). Активация аденилатциклазы в мембранах тиреоидных клеток под действием ТТГ была обнаружена довольно давно, но открытие стимуляторного и ингибиторного G-белков ($G_с$ и $G_и$) потребовало пересмотра вопроса. В опытах с добавлением ТТГ либо совместно с холерным (активатор $G_с$-белка), либо с коклюшным токсином (ингибитор $G_и$-белка), было показано, что активация аденилатциклазы под действием ТТГ в основном обусловливается ингибированием $G_и$-белка. В любом случае в присутствии ТТГ в тиреоидных клетках на-

капливается цАМФ. Многие из биологических эффектов ТТГ, включая описанный ниже комплекс морфологических изменений, можно воспроизвести с помощью дб-цАМФ. До последнего времени все эти эффекты объясняли фосфорилированием каких-то неидентифицированных белков под влиянием цАМФ-зависимой протеинкиназы.

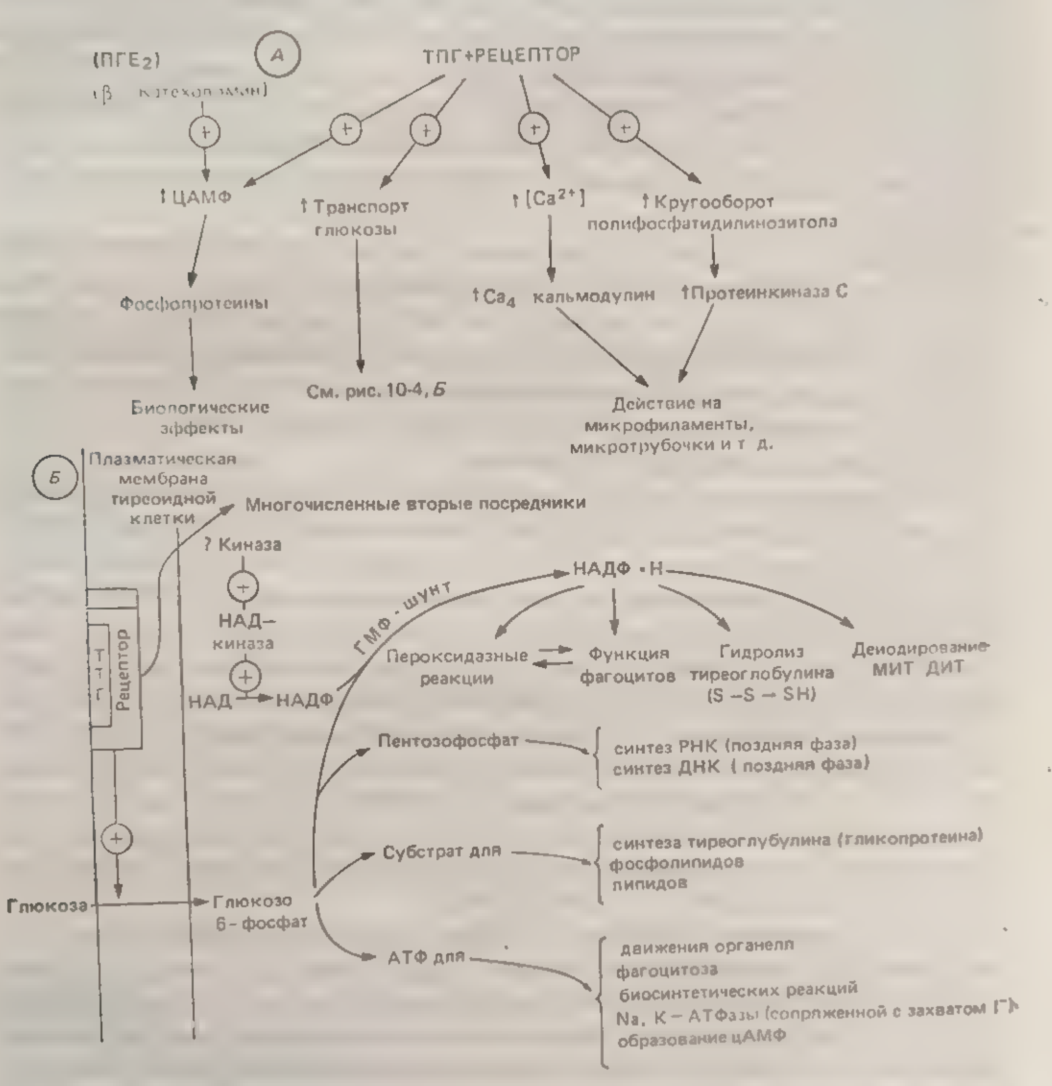


Рис. 10-4. *А*. Последовательность образования многочисленных внутриклеточных вторых посредников в результате взаимодействия ТТГ с рецептором. *Б*. Последствия усиленного транспорта глюкозы под действием ТТГ и в результате активации НАД-киназы с помощью одного из вторых посредников, образовавшихся при взаимодействии ТТГ с рецептором. Если глюкоза метаболизируется по гексозомонофосфатному (ГМФ) шунту, НАДФ стимулирует продукцию НАДФ·Н, который необходим для функционирования тиреоидной клетки. (НАДФ — никотинамидадениндинуклеотидфосфат; НАДФ·Н — восстановленный НАДФ).

Обнаружение новых фактов быстро привело к пересмотру старых представлений. Так, после того как сформировались представления о системе фосфатидилинозитол-инозитолтрифосфат-диацилглицерол-протеинкиназа было установлено, что и эта система передачи сигнала в клетку участвует в механизмах действия ТТГ, в частности в щитовидной железе собак. Как только выяснилось, что полный биологический ответ тиреоидной клетки на стимуляцию ТТГ требует присутствия Ca^{2+}, возникло предположение, что комплекс Ca^{2+}-кальмодулин служит медиатором и (или) модулятором внутриклеточных процессов, инициируемых ТТГ. Таким образом, подобно множеству других систем, взаимодействие между ТТГ и его рецептором можно рассматривать как начало сложной цепи событий, приводящих — через этап фосфорилирования — к изменению активности многих белков, расположенных в стратегически важных участках клетки — мембранах, микротрубочках, микрофиламентах, ферментных системах и рибосомах. Некоторые из этих белков являются субстратами цАМФ-зависимой протеинкиназы, другие — субстратами протеинкиназы С, третьи — субстратами киназы, активируемой комплексом Ca^{2+}-кальмодулин. Наконец, какие-то из них могут активироваться непосредственно ионами Ca^{2+}. Идентификация субстратов различных протеинкиназ и выяснение их конкретной роли в общей реакции на ТТГ требуют дальнейших исследований.

Предпринимались попытки проанализировать свойства разнообразных моноклональных антител, образующихся при иммунизации животных рецептором ТТГ. Некоторые из антител оказались стимулирующими, т. е. имитирующими эффект ТТГ. Другие обладали ингибирующим действием, т. е. блокировали эффект ТТГ. Антитела третьей группы (называемые «смешанными»), подобно ТТГ стимулировали как рост тиреоидных клеток, так и активность аденилатциклазы, но в отличие от ТТГ гораздо эффективнее стимулировали рост клеток, чем активность аденилатциклазы. Эти данные говорят о том, что с одним и тем же рецептором могут связываться многочисленные агонисты, но их действие опосредуется разными передаточными механизмами. Это имеет определенное практическое значение, поскольку выяснилось, что у человека могут образовываться различные антитиреоидные аутоантитела (см. ТТГ-миметические иммуноглобулины).

Под влиянием ТТГ в клетках тиреоидных фолликулов возникают глубокие *морфологические изменения* (рис. 10-5). Тиреоидная клетка в высокой степени полярна: на ее апикальной поверхности имеются многочисленные микроворсинки (что резко увеличивает площадь поверхности), к которым прилегают запасы коллоида в фолликуле. Базальная поверхность клетки

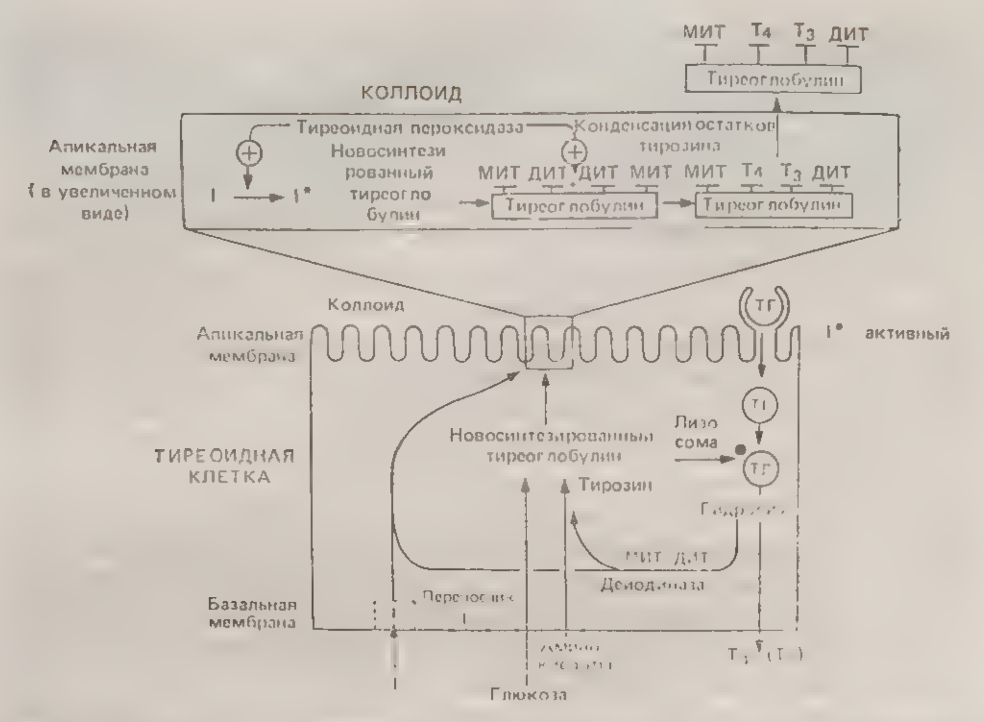


Рис. 10-5. Цикл иода в щитовидной железе. МИТ — монойодтирозин, ДИТ-дийодтирозин, T_4 — тироксин, T_3 — трийодтиронин. ТГ — тиреоглобулин.

контактирует с кровью и, вероятно, именно здесь расположен комплекс рецептора с системой образования цАМФ. Через несколько минут после воздействия ТТГ у апикальной поверхности клеток появляются капли коллоида. Отростки микроворсинок как бы «отрывают» мелкие капли от его основного запаса.

Одновременно электроноплотные органеллы, идентифицируемые как лизосомы, мигрируют из базальной части клетки к апикальной. Здесь происходит слияние лизосом с коллоидными каплями и образующиеся в результате фаголизосомы перемещаются в обратном направлении (к базальной части клетки), постепенно уменьшаясь в размерах. Внутри фаголизосом происходит гидролиз тиреоглобулина, и продукты гидролиза диффундируют в водную среду клетки. Гормоны — в обычных условиях преимущественно тироксин (T_4) и в меньшем количестве трийодтиронин (T_3) — поступают из клетки в кровь. Монойодтирозин и дийодтирозин, которые тоже являются продуктами гидролиза тиреоглобулина, дейодируются под действием дегалогеназы — фермента, присутствующего в ткани щитовидной железы и «подбирающего» отходы иодида и тирозина для использования их в новом цикле. Все эти поразительные морфологические изменения наблюдаются в клетке не только после введения ТТГ, но и после обработки ее дб-цАМФ.

В некоторых из перечисленных выше процессов (наиболее вероятно — в поглощении коллоида и транслокации органелл) должны принимать участие микротрубочки и микрофиламенты. Действительно, колхицин (токсичный для микротрубочек) и цитохалазин В (нарушающий функцию микрофиламентов) блокируют морфологическую реакцию на ТТГ или цАМФ.

ТТГ влияет на все стадии *метаболизма иода.* Наиболее ранний эффект — это описанная выше стимуляция гидролиза тиреоглобулина и высвобождения гормонов. После этого через несколько часов возникают изменения клеточной мембраны, обусловленные синтезом новых РНК и белков. В результате этих процессов вначале возрастает *отток* I^- из щитовидной железы, но позднее увеличивается *поглощение* I^-. Происходит быстрое повышение связывания иода с органическими соединениями и возрастает мощность транспорта иода в клетку. Таким образом, под действием ТТГ все компоненты внутриклеточного иодного цикла функционируют с повышенной скоростью, причем одновременно возрастает скорость синтеза тиреоглобулина.

ТТГ оказывает сильно выраженное влияние на *углеводный обмен,* и пока неясно, как оно связано с действием на метаболизм иода, а также с другими проявлениями общей реакции на ТТГ (см. рис. 10-4, *Б*). Непосредственный эффект ТТГ — стимуляция утилизации глюкозы и потребления кислорода — не требует синтеза белка. Поступление глюкозы в клетку увеличивается в результате взаимодействия ТТГ с рецептором, но не требует участия цАМФ. При этом возрастает активность НАД-киназы, что приводит к увеличению уровня НАДФ. Хотя считается, что в гексозомонофосфатный (пентозофосфатный) шунт поступает небольшой процент глюкозы, однако мощный приток глюкозы ускоряет образование НАДФ·Н — кофактора многочисленных реакций метаболизма иода в клетке щитовидной железы. Более того, пентоза, образующаяся путем прямого окисления, может быть использована в метаболизме РНК и ДНК. Глюкоза необходима для синтеза тиреоглобулина и других белков, равно как и для синтеза липидов. Энергия деградации глюкозы в ходе гликолиза и окисления может использоваться активированной клеткой в различных целях (см. рис. 10-4, *Б*).

Многообразное действие оказывает ТТГ на метаболизм *фосфолипидов.* Можно думать, что стимуляция синтеза фосфолипидов, возникающая после первоначального кратковременного усиления их распада, каким-то образом необходима для тех изменений клеточной мембраны, которые лежат в основе описанных выше морфологических эффектов ТТГ. Однако любопытно, что подобное действие ТТГ пока не удается воспроизвести с по-

мощью цАМФ. О стимуляции кругооборота полифосфатидилинозитола под влиянием ТТГ уже упоминалось.

ТТГ стимулирует синтез *белка*, что может определяться ускорением транспорта аминокислот, повышением доступности АТФ (и ГТФ), а также прямым эффектом на уровне трансляции и транскрипции. Судя по скорости включения радиоактивно меченных предшественников, под влиянием ТТГ возрастает синтез РНК и ДНК.

Итак, комплекс координированных процессов, возникающих в результате взаимодействия ТТГ с рецептором на плазматической мембране клетки, включает следующие явления: изменение проницаемости мембраны, повышение притока в клетку субстратов, образование цАМФ, ускорение кругооборота полифосфатидилинозитола, возрастание концентрации ионов Ca^{2+} в цитозоле и фосфорилирование неизвестного пока числа белков — субстратов протеинкиназ. Высоко специализированная клетка щитовидной железы реагирует на ТТГ усилением протеолиза запасенного тиреоглобулина, повышением скорости секреции, T_4 и T_3 и увеличением захвата и органификации иодида. При длительном воздействии ТТГ происходит гипертрофия клеток и в конце концов их деление.

ТТГ-миметические иммуноглобулины

При болезни Грейвса ТТГ практически исчезает из крови и (в отличие от нормы), введение T_3 не подавляет активности щитовидной железы. Этиология болезни Грейвса остается невыясненной, но большинство авторов относят это заболевание к группе аутоиммунных.

В 1960-х гг. привлекало большое внимание предположение о том, что неадекватную гиперпродукцию тиреоидных гормонов при болезни Грейвса вызывает вещество, получившее название длительно действующего тиреоидного стимулятора (ДДТС). Это вещество оказалось иммуноглобулином класса G и, подобно ТТГ, оказывало эффект, опосредованный цАМФ-зависимым механизмом. Впоследствии выяснилось, что ДДТС вытесняет ТТГ из комплекса с рецептором на мембране клеток щитовидной железы. Первоначальный энтузиазм потускнел, когда при тщательном обследовании многих больных не удалось выявить корреляции между наличием или отсутствием гипертиреоза, с одной стороны, и ДДТС — с другой, а также между тяжестью заболевания и титром ДДТС.

Помимо ДДТС, было обнаружено новое семейство иммуноглобулинов, а именно иммуноглобулины, стимулирующие активность щитовидной железы человека; их действие близко напоминает эффекты ТТГ и ДДТС. Эти глобулины обнаруживаются,

по-видимому, у подавляющего большинства лиц с болезнью Грейвса. Их стимулирующий эффект сохраняется несколько дольше, чем действие ТТГ (максимум через 30 и 7 мин соответственно), но оказывается гораздо более коротким, чем многочасовое действие ДДТС. Стимулирующие щитовидную железу иммуноглобулины вытесняют как ТТГ, так и ДДТС из комплекса с рецептором на мембране тиреоидной клетки, и это свидетельствует о сходстве конфигураций гормона и иммуноглобулинов, обусловливающем не только их связывание с одним и тем же рецептором, но и активацию аденилатциклазы. Существуют разные типы аутоантител к поверхностным антигенам тиреоидных клеток. Помимо упомянутых стимулирующих антител обнаружены и разрушающие, которые могут вызывать воспалительное «запустевание» щитовидной железы (болезнь Хасимото). Описаны также антитела, блокирующие эффекты ТТГ.

Цикл иодида в щитовидной железе

Механизм концентрирования иодида

Механизм захвата (концентрирования) иодида иногда называют иодидным насосом, или «помпой» (см. рис. 10-5). Кровоток через щитовидную железу настолько велик, а способность тиреоидных клеток к захвату I^- настолько сильна, что железа, несмотря на свой относительно небольшой размер, способна извлекать 20—40% иодида, присутствующего в крови (опыты с введением радиоактивного иода). Основная часть не поглощенного щитовидной железой иодида обнаруживается в моче; на долю обоих процессов — захвата железой и экскреции с мочой — приходится более 90% введенной дозы. Небольшие количества иодида могут выделяться с желудочным соком, слюной и потом.

Иодидный насос обладает всеми свойствами системы активного транспорта: 1) концентрация накапливающегося в железе I^- в 30—40 раз превышает таковую в сыворотке крови; 2) накопление I^- происходит против электро-химического градиента; 3) процесс ингибируют ионы, имеющие сходные размеры и форму (перхлорат, тиоцианат). Для эффективной работы механизма концентрирования I^- требуются энергозатраты. Система насыщаема; ее ингибирует большой избыток I^-. Судя по тому, что сердечные гликозиды (например, уабаин) тормозят захват иодида, можно предположить, что эта функция тиреоидной клетки сопряжена с активностью Na^+,K^+-АТФазы.

Главное, чем определяется активность функционирования механизма захвата I^-, — это стимуляция тиреотропным гормоном. У гипофизэктомированных животных или людей, страдаю-

щих гипопитуитаризмом, способность щитовидной железы поглощать I^- очень низка. В этих случаях введение ТТГ может повысить захват I^- до уровня, даже превышающего норму. При гипертиреозе захват I^- гораздо выше нормы; отсюда следует, что глобулины, имитирующие эффекты ТТГ, могут поддерживать и работу механизма концентрирования I^- на высоком уровне. В целом поглощение радиоактивного иода щитовидной железой отражает тиреоидный статус: оно снижено при гипотиреозе и повышено при гипертиреозе. Однако при трактовке результатов определения поглощения изотопа иода необходимо учитывать уровень потребления иода до исследования, поскольку предшествующий дефицит иода обусловливает крайне высокую степень поглощения, а предшествующее поступление иода в организм (с иодсодержащими лекарственными препаратами или белым хлебом, выпекаемым с добавкой иода) может занизить результаты исследования. Проба с радиоактивным иодом, хотя все еще используется в диагностических целях, постепенно вытесняется современными методами определения гормонов в крови. Диагностическое применение радиоактивного иода требует введения лишь нескольких *микрокюри* изотопа ^{131}I с периодом полураспада 7 суток. Дозу облучения можно уменьшить, если заменить ^{131}I на технеций.

Некоторые ионы, особенно SCN^-, ClO_4^-, NO_3^- и BF_4^-, ингибируют систему транспорта иодида. Перхлорат (ClO_4^-) применяют для диагностики одного из врожденных дефектов метаболизма щитовидной железы, а именно нарушения органификации иода (другие будут рассмотрены ниже). При введении следовых количеств радиоактивного иодида щитовидная железа здорового человека сохраняет радиоактивность в течение пяти часов, даже если через 2—3 ч после введения метки вводят перхлорат. В условиях же нарушенной органификации введение перхлората вызывает выброс больших количеств иодида из щитовидной железы (предварительно накопленного, но не подвергшегося ни окислению, ни включению в тиронины): при этом радиоактивность железы, регистрируемая через 5 ч после введения следовой дозы меченого иодида, резко падает.

Функция механизма захвата используется для лучевого разрушения щитовидной железы при болезни Грейвса. Радиоактивный иод (^{125}I или ^{131}I) является источником как гамма-, так и бета-излучения. Гамма-излучение накопленного изотопа можно регистрировать наружно, над щитовидной железой. Бета-частицы же не проникают на поверхность, но обладают сильным деструктивным действием на коротком расстоянии, т.е. внутриклеточно. Если больному ввести радиоактивный иод (несколько милликюри), то он накапливается в тиреоидных клетках, и под действием локального облучения они разрушаются. Такой ме-

тод с успехом применяют при лечении больных с гиперфункцией щитовидной железы.

Высокая проникающая способность гамма-излучения используется в диагностике узловых форм поражения щитовидной железы. Путем наружного сканирования щитовидной железы после поглощения ею введенной дозы радиактивного иодида удается локализовать узлы и охарактеризовать их способности концентрировать I^-. Эти данные имеют важнейшее значение для лечения соответствующих заболеваний.

«Органификация» иода

Тиреоглобулин синтезируется в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме, откуда поступает в комплекс Гольджи; здесь происходит посттрансляционная модификация белка, заключающаяся главным образом в присоединении сложных углеводных боковых цепей. Тиреоглобулин состоит из двух полипептидных цепей, примерно содержащих по 5000 аминокислотных остатков. Его мол. масса — около 67 000, причем 10% приходится на долю углеводов. Он содержит 115 остатков тирозина, составляющих 3% массы всей молекулы белка. Лишь около 10% остатков тирозина, причем локализующихся на поверхности белковой глобулы, в конце концов подвергаются иодированию. Удивительно, однако, что при полном гидролизе белка обнаруживаются всего 1—3 тирониновые молекулы (T_4, T_3). В настоящее время большинство исследователей считают, что остатки тирозина подвергаются иодированию лишь после включения в молекулу тиреоглобулина.

Весь комплекс процессов — доставка I^- с помощью системы транспорта иодида; функционирование тканевой пероксидазы (ТПО), представляющей собой связанный с мембраной гемопротеин, образование H_2O_2 при участии НАДФ·Н-цитохром-С-редуктазы (детали процесса неизвестны); синтез тиреоглобулина — осуществляется столь быстро и эффективно, что органификация иода в клетке (на апикальной мембране или вблизи нее) происходит почти мгновенно после его проникновения через базальную мембрану. При этом пероксидаза щитовидной железы катализирует окисление I^- в реакционноспособные частицы (свободные радикалы?), которые и обеспечивают иодирование небольшого числа доступных поверхностных остатков тирозина во вновь синтезированном тиреоглобулине. Этот белок можно считать прогормоном в том смысле, что его пространственная структура, определяемая аминокислотной последовательностью и углеводным составом, обеспечивает близкое расположение очень небольшого числа иодированных остатков тирозина, что способствует их конденсации, катализируемой ТПО. Полностью иодированный тиреоглобулин, содержащий монойодтирозин,

дииодтирозин, T_4 и небольшие количества T_3, секретируется в коллоид с такой скоростью, что с помощью радиоавтографии первые гранулы в коллоиде, прилежащем к ворсинчатой поверхности клетки, удается обнаружить уже через несколько минут после введения радиоактивного иодида. При гипертиреозе и недостаточности иода отношение T_3 к T_4 в тиреоглобулине увеличивается, и потому при его гидролизе возрастает секреция T_3. Поскольку T_3 биологически более активен, чем T_4, такой сдвиг отношения $T_3 : T_4$ при гипертиреозе обусловливает его большую тяжесть, а при гипотиреозе — увеличивает биологическую эффективность иодида при недостаточном его поступлении в организм.

Резорбция коллоида и секреция гормонов

Когда клетка щитовидной железы получает секреторный стимул (см. выше раздел о ТТГ), ворсинки апикальной мембраны окружают и поглощают небольшие капельки коллоида, который таким образом транспортируется через апикальную мембрану. Первыми подвергаются эндоцитозу (с последующей секрецией) те молекулы тиреоглобулина, которые последними подверглись иодированию. Лизосомные протеазы гидролизуют содержащийся в каплях коллоида тиреоглобулин до аминокислот и углеводов. Два продукта этого гидролиза — T_4 и T_3 — секретируются в кровь, а моноиодтирозин и дииодтирозин быстро деиодируются. Образующиеся при этом I^- и тирозин вновь вступают в синтетический цикл. T_4 и T_3 устойчивы к действию тканевой дегалогеназы, отщепляющей I^-. Поскольку 80% иодтирозинов в тиреоглобулине представлены моно- и дииодтирозином, этот фермент играет важную роль в сохранении иодида.

В норме в кровь поступает и небольшое количество тиреоглобулина, который можно определить радиоиммунологически. При воспалительных заболеваниях щитовидной железы содержание этого белка в крови увеличивается.

Цикл превращения иода в щитовидной железе служит прекрасным примером микрогомеостатических регуляторных механизмов, функционирующих и в более крупных системах. Клетка щитовидной железы способна интегрировать множество сигналов внешней среды, например доступность иода или субстратов, наличие ТТГ или ТТГ-подобных стимуляторов, в единый координированный и непрерывный процесс биосинтеза, запасания и секреции гормонов.

Тиреоидные гормоны в крови

После того как протеаза тиреоглобулина высвобождает запасенные в фолликулярном коллоиде T_4 и T_3, они выходят из

клетки и попадают в кровоток, где избирательно связываются одним из нескольких белков-переносчиков, изученных достаточно подробно. Основное количество присутствующего в крови тиреоидного гормона представлено T_4; в гораздо меньших концентрациях можно выявить T_3. При тиреотоксикозе или острых инфекционных поражениях щитовидной железы концентрация T_3 в крови повышается. Природа тироксин-связывающих белков была изучена путем химического фракционирования белков сыворотки и остроумного сочетания электрофореза на бумаге с использованием ^{131}I для последующей идентификации искомых специфических соединений. При этом выяснилось, что бо́льшая часть иода, связанного с белком, мигрирует с промежуточной подвижностью между α_1- и α_2-глобулинами (фракция тироксин-связывающего глобулина — ТСГ). Меньшая часть, выявляемая при особом составе и pH буфера, мигрирует с преальбуминовой фракцией (тироксин-связывающий преальбумин), и, наконец, около 10% метки связывается альбумином.

Проникновение в клетку T_4 или T_3, связанных с белком, не доказано. Видимо, в участках их взаимодействия с тканями-мишенями в первую очередь происходит диссоциация гормон-белкового комплекса. Это может иметь место как в периферических тканях (см. ниже), так и в тех структурах нервной системы и гипофиза, которые участвуют в регуляции секреции ТТГ по механизму обратной связи.

Определение свободных и связанных тиреоидных гормонов, а также оценка их сродства (аффинности) к белкам-переносчикам привели к пересмотру представлений о сравнительном значении T_4 и T_3 в регуляции метаболизма. 60% содержащегося в крови T_4 связано с ТСГ, 30% — с тироксин-связывающим преальбумином и 10% — с альбумином. T_3 очень слабо связывается с преальбумином, а его сродство к ТСГ составляет всего 3% от таковой T_4. Таким образом, хотя щитовидная железа продуцирует в 10 раз больше T_4, чем T_3, особенности связывания этих гормонов белками могут приводить к тому, что концентрация свободного T_3 в плазме оказывается лишь вдвое ниже концентрации свободного T_4. При гипертиреозе и недостаточности иода отношение T_3 к T_4 может быть еще выше. Поскольку калоригенный эффект T_3 выше, чем T_4, то циркулирующий в крови T_3 вносит весьма существенный вклад в общее метаболическое действие обоих гормонов.

Функциональные тесты

Для оценки функции щитовидной железы издавна использовали определение основного обмена, но на смену ему пришли более специфические и чувствительные методы. Таких методов

много, и это обусловлено тем, что использование содержащих иод препаратов (особенно рентгеноконтрастных сред) влияет на результаты отдельных проб. Кроме того, колебания уровня циркулирующих связывающих белков-переносчиков стимулировали поиски надежных способов определения свободных T_4 и T_3.

Не вдаваясь в подробное описание функциональных тестов, отметим, что их сочетание позволяет составить достаточно точное представление о состоянии отдельных звеньев системы гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа. Все эти тесты основаны на фундаментальных химических, физических, биохимических и физиологических исследованиях. Перечень основных функциональных тестов приведен в табл. 10-1. Взятые вместе, они отражают поразительный успех применения новых биологических знаний к анализу заболеваний человека.

Биологическое действие тиреоидных гормонов (табл. 10-2)

Недостаточность и избыток тиреоидных гормонов сказывается практически на любом процессе жизнедеятельности (см. табл. 10-2). Задача этого раздела заключается в оценке соответствующих эффектов для того, чтобы выяснить степень, в которой наблюдения, сделанные на разных уровнях организации, дополняют или противоречат друг другу.

Общие (на уровне организма) проявления недостаточности или избытка тиреоидных гормонов довольно очевидны. В целом, чем раньше возникает дефицит гормона, тем сильнее это сказывается на ЦНС. Если такой дефицит долго остается без коррекции, то могут наступить необратимые изменения головного мозга.

Хотя некоторые изменения в ЦНС при недостаточности тиреоидных гормонов можно принять за дефект развития, это, очевидно, не совсем так: ведь возникновение гормональной недостаточности у ранее здорового взрослого человека ведет к появлению тех же симптомов психической инертности, апатии и сонливости, которые характерны для ребенка с кретинизмом, а скорость исчезновения этих сдвигов под влиянием заместительных доз тиреоидных гормонов просто удивительна. Больной тиреотоксикозом — возбужденный, беспокойный, эмоционально лабильный — нередко попадает к врачу-интернисту через психиатра. И эти симптомы при правильном лечении очень быстро исчезают.

Больной гипотиреозом предпочитает теплую погоду и сильно страдает от холода; при гипертиреозе ситуация обратная. Одним из наиболее ярких признаков гипотиреоза является нарушение теплопродукции. Напротив, больной гипертиреозом чрез-

Таблица 10-1. Перечень тестов, характеризующих функцию щитовидной железы (в скобках — пределы колебаний результатов в норме)[1)]

Общие тесты
- Основной обмен (от −10% до +10%)
- Глубокий сухожильный рефлекс. При гипотиреозе — замедление расслабления
- Уровень холестерола в сыворотке (примерно 170—230 мг%)

Специальные тесты
- Антитиреоидные антитела в сыворотке. При болезни Хасимото и болезни Грейвса
- Биопсия щитовидной железы. При неоплазии, тиреоидите

Поглощение радиоактивного иода
- 2 ч (2—10% введенной дозы)
- 6 ч (4 — 20% введенной дозы)
- 24 ч (6—33% введенной дозы). Малоинформативный тест при гипотиреозе.

Сканирование: локализация участков и определение уровня накопления радиоактивности в щитовидной железе или в других тканях

Определение гормонов в плазме
- Связанный с белком иод (4—8 мг/100 мл; включает моно- и дииодтирозин. Используется только для скрининга).
- T_4 — с помощью колоночной хроматографии (2,9—6,4 мкг%). Определяется общий уровень в крови T_4 без других иод-содержащих соединений
- T_4 — с помощью метода конкурентного белкового связывания (3—7 мкг%). Радиолигандный метод, основанный на использовании ТСГ человека, насыщенного радиоактивным T_4. Может применяться и в присутствии иодных примесей
- Свободный T_4 (около 3 нг/100 мл). Точные результаты даже при измененном уровне ТСГ
- Индекс свободного T_4 (косвенная оценка уровня свободного T_4). Свободный T_4 определяют по данным общего содержания T_4 и уровню связывающегося со смолой T_4.
- Общий T_3 — с помощью радиоиммунологического анализа или газо-жидкостной хроматографии (100—200 нг/100 мл; свободный гормон — 1,5 нг/ /100 мл). Показатель может быть полезен, когда другие определения тиреоидных гормонов в крови не выявляют отклонений от нормы, например при T_3-токсикозе
- Реверсивный T_3 и другие метаболиты T_4

Тесты на подавление и стимуляцию
- Супрессивный тест с T_3. В норме T_3 (75 мкг/сутки) снижает поглощение радиоактивного иода щитовидной железой до 50% от исходного уровня. При гипертиреозе поглощение не снижается
- Стимуляция ТТГ (определение поглощения радиоактивного иода щитовидной железой после введения ТТГ). С помощью этого теста разграничивают первичный и вторичный гипотиреозы
- Определение ТТГ в плазме — с помощью радиоиммунологического анализа (3,9±2 мкЕд/мл). Повышен при гипотиреозе
- Стимуляционный тест с ТРГ: определение ТТГ после введения ТРГ. Разграничивает гипоталамический и гипофизарный гипотиреозы.

[1)] По T. Dalakos.

мерно «приспособлен» к холоду и плохо переносит тепло. По существу в тепле у него не выключается механизм адаптации к холоду, и он с трудом переносит температуру воздуха, которая здоровым людям кажется умеренной.

Недостаток или избыток тиреоидных гормонов может вызывать глубокие поведенческие сдвиги. Иногда, например, трудно разграничить психическое состояние тревоги и гипертиреоз.

Среди проявлений гипо- или гипертиреоза вне психической сферы наибольший интерес представляют отклонения в росте. Тироксин у младенцев и детей, страдающих гипотиреозом и замедлением роста, в заместительных дозах действует как гормон роста; в результате лечения соответствующими количествами тиреоидных гормонов дети начинают быстро расти. С другой стороны, передозировка гормона вызывает усиленный распад белка и — в тяжелых случаях — истощение. При болезни Грейвса организм больного буквально «сгорает».

В 1985 г. Магнус-Леви (Magnus-Levy), сделал важнейшее открытие, установив, что у больных гипотиреозом основной обмен понижен, а гипертиреоз характеризуется повышением основного обмена. Этот показатель до сих пор остается значимым, хотя его специфичность и невелика, поскольку основной обмен может повышаться или снижаться по разным причинам, не только в результате изменения активности щитовидной железы.

Уже очень давно с нарушением тиреоидной функции связывают изменения в липидном обмене. При гипотиреозе могут иметь место липемия, гиперхолестеринемия и жировая инфильтрация печени; для гипертиреоза характерно снижение концентрации холестерола в крови. Последние исследования с ^{14}C-метаболитами показали, что подобные изменения уровня холестерола в плазме зависят от скорости его катаболизма в печени. Так, при гипертиреозе, несмотря на повышенное образование холестерола из ацетата (опыты на срезах печени), одновременно происходит еще более быстрое его разрушение, что и обусловливает гипохолестеринемию. Другим фактором, влияющим на уровень холестерола в сыворотке, является то, что даже переедании больной гипертиреозом получает с пищей меньше калорий, чем ему требуется. У взрослых людей концентрация холестерола в сыворотке крови колеблется в широких пределах и не может использоваться для определения тиреоидного статуса, однако у маленьких детей повышенное содержание холестерола служит довольно важным диагностическим показателем и должно настораживать врача в отношении возможного гипотиреоза.

Нет такой системы органов, на которую не влиял бы дефицит или избыток тиреоидных гормонов. Поведенческие сдвиги,

вызванные патологией щитовидной железы, отражают действие гормонов на ЦНС и нейромышечный аппарат. Не менее наглядно проявляется зависимость и многих других систем от уровня тиреоидных гормонов.

Что касается *сердечно-сосудистой системы,* то минутный объем сердца, как правило, меняется пропорционально основному обмену, снижаясь при гипотиреозе и возрастая при тиреотоксикозе. То же самое можно сказать и об объеме циркулирующей крови и систолическом артериальном давлении. Одним из отличительных признаков гипертиреоза можно считать умеренное повышение систолического артериального давления без существенных изменений диастолического, т. е. заметное увеличение пульсового давления. Это связано с мощными, энергичными и быстрыми сокращениями сердца. Напротив, при гипотиреозе сердцебиения слабые (на ЭКГ зубцы обычно имеют сниженный вольтаж). Скорость кровотока на участке рука — легкие или рука — язык при гипотиреозе снижена, а при гипертиреозе — увеличена.

Хотя регуляция потребления пищи и пищевое поведение не относятся к непосредственным показателям *состояния желудочно-кишечного тракта,* нарушения тиреоидного статуса сопровождаются отчетливыми отклонениями в количестве потребляемой пищи. Гипофункция щитовидной железы обычно сопровождается снижением потребления пищи, тогда как больные тиреотоксикозом обычно много едят, хотя при этом и не полнеют. Механизмы, посредством которых потребление пищи приводится в некоторое соответствие энергетическим потребностям организма, до сих пор неизвестны, но некоторые соображения по этому поводу приведены в гл. 16.

Основная функция желудочно-кишечного тракта, которая, как правило, резко меняется при нарушении деятельности щитовидной железы, — это его двигательная активность. У страдающих кретинизмом детей или взрослых, больных гипотиреозом, обычно наблюдаются запоры, тогда как больные гипертиреозом жалуются на частый стул или позывы. Механизм этих эффектов неясен. Отчасти они могут быть связаны с изменениями в ЦНС, а отчасти — с изменениями чувствительности гладкомышечных клеток кишечника к обычным нейрогуморальным регуляторам.

Скорость всасывания глюкозы в кишечнике сопряжена с основным обменом и общей активностью щитовидной железы. Гипотиреоз сопровождается замедлением всасывания, а гипертиреоз — его ускорением. Скорость потребления глюкозы из крови тканями периферических органов и печенью сопряжена с основным обменом так же, как скорость всасывания глюкозы в кишечнике. Поэтому кривая толерантности к глюкозе, приня-

той перорально, у больных с гипо- и гипертиреозом может иметь одинаковый вид.

Влияние дефицита или избытка тиреоидных гормонов на *мышцы* очень сложно. Мышечная слабость или ощущение сниженной мышечной силы — одна из наиболее частых жалоб, которые приходится выслушивать врачу, но патофизиология слабости редко становится предметом обсуждения. Мышечную слабость принято считать производной следующих факторов: 1) психогенного ощущения или опасения слабости, 2) изменений в сердечно-сосудистой или дыхательной системе и 3) состояния самих мышц как сократительного аппарата. Психогенное ощущение слабости, вероятно, имеет столь же сложный генез, как ощущения голода, сытости, жажды и т. д. Но кроме констатации факта, что доступность тиреоидных гормонов может влиять на ощущение усталости, об этом трудно что-либо сказать. Изменения в дыхательной и сердечно-сосудистой системе при гипертиреозе, видимо, имеют большое значение в возникновении мышечной слабости, поскольку резервы сердца и легких при этом состоянии оказываются недостаточными для удовлетворения потребности организма в кислороде и субстратах окисления даже при умеренной нагрузке. У лиц с тяжелым гипертиреозом эта потребность может настолько возрасти, что даже тахикардия, повышенное пульсовое давление и выраженное снижение времени оборота крови неспособны удовлетворить ее. Кроме того, при резко повышенной скорости обмена может возникнуть дефицит витаминов, а как следствие — поражение сердца, аналогичное тому, которое наблюдается при бери-бери, и в конечном итоге — развитие сердечной недостаточности. Если гипертиреоз возникает у лиц среднего или пожилого возраста и повышенные требования обмена предъявляются к сердцу, снабжаемому кровью через суженные атеросклерозом сосуды, может возникнуть декомпенсация кровообращения.

Как гипо-, так и гипертиреоз характеризуются повреждениями и самой мышечной ткани. Гипотиреозу свойственно генерализованное снижение мышечного тонуса и вялость мышц. При этом у детей и растущих животных отставание в росте сопровождается и отставанием в развитии мышц и других тканей. При гипертиреозе имеет место отрицательный баланс азота, а креатинурия и низкие концентрации креатинина и фосфокреатина в мышцах указывают на повышенную скорость катаболизма мышечного белка. Таким образом, мышечная слабость при гипертиреозе обусловлена суммой факторов: недостаточностью кровообращения, местными нарушениями ткани мышц и, возможно, преувеличенным ощущением усталости, связанным с центральными нервными механизмами. Помимо этого, у больных с тяжелым гипертиреозом наблюдаются фибриллярные по-

дергивания и тремор, отражающие непрерывную «бомбардировку» мышц нервными импульсами, так что в некотором смысле такой больной постоянно работает, и любая мышечная работа, которую он выполняет, накладывается на уже существующую нагрузку.

Эта постоянная мышечная активность больного гипертиреозом животного или человека может и не выявляться при осмотре, но она отчетливо видна на электромиограммах. Поскольку на долю мышц приходится 50% массы тела, а амплитуда колебаний потребления кислорода мышцами выше, чем любой другой ткани, мышечная активность должна вносить существенный вклад в наблюдаемое при гипертиреозе повышение основного обмена, даже при соблюдении условий его определения; однако, как мы увидим далее, и другие ткани гипертиреоидных животных при исследовании in vitro обнаруживают повышенное потребление кислорода.

Считается, что животные и люди, больные гипотиреозом, обладают повышенной восприимчивостью к инфекционным заболеваниям. Это может быть связано с нарушением функционирования иммунологических механизмов и снижением фагоцитарной активности лейкоцитов. Страдающие гипертиреозом также очень восприимчивы к инфекциям, но механизм этой восприимчивости недостаточно ясен. Не исключено, что значительную роль здесь играет общее ослабление организма, обусловленное отрицательным азотным балансом на протяжении длительного времени.

Метаболизм тканей, полученных от животных с нарушенной функцией щитовидной железы, широко изучался in vitro. Некоторые ткани, особенно печень и почки, в полном соответствии с тиреоидным статусом экспериментальных животных, обнаруживают высокое потребление кислорода, если они взяты от особей с гипертиреозом, и низкое — если с гипотиреозом. Эти эффекты возникают не сразу, а лишь через неделю и более после воспроизведения у животного соответствующего состояния. События, развивающиеся в латентном периоде, будут рассмотрены ниже.

Гипертиреоз характеризуется не только повышением «основного обмена» некоторых тканей; не менее удивительно то, что в других тканях, в частности мозге, семенниках и сетчатке глаза, потребление кислорода остается на одном и том же уровне независимо от того, получены ли эти ткани от животных с недостаточностью или избытком тиреоидных гормонов. В целостном организме степень обеспеченности этими гормонами, несомненно, влияет на функцию мозга, и поэтому отсутствие метаболических сдвигов (хотя бы на данном «макроскопическом» уровне) заслуживает внимания. Остается сделать вывод, что

Таблица 10.2. Проявления недостаточности и избытка тиреоидных гормонов на различных уровнях организации

Уровень организации	Гипотиреоз	Гипертиреоз
Поведение	Задержка умственного развития	Часто ускорение психических процессов
	Психическая и физическая вялость	Беспокойство, возбуждение, тревога, гиперкинез
	Сонливость	Бессонница
	Чувствительность к холоду	Чувствительность к теплу
Целостный организм	Отставание в росте	Отрицательный азотный баланс
	Снижение основного обмена	Повышение основного обмена
	Гиперхолестеринемия	Гипохолестеринемия
	Микседема	Экзофтальм
Системы органов		
Сердечно-сосудистая	Снижение минутного объема	Повышение минутного объема
	Повышение артериального давления, (повышение периферического сопротивления)	Повышение систолического артериального давления, повышение пульсового давления (повышение силы изгнания крови из сердца)
	Слабость сердцебиений	Тахикардия, сердцебиения
	Увеличение времени оборота крови (т. е. замедление кровообращения)	Уменьшение времени оборота крови (т. е. ускорение кровообращения)
Желудочно-кишечный тракт	Гипофагия	Гиперфагия
	Запор	Частый стул и позывы
	Снижение скорости всасывания глюкозы	Повышение скорости всасывания глюкозы
Мышцы	Слабость	Слабость
	Ослабление тонуса	Фибриллярные подергивания, тремор
Иммунологические механизмы	Восприимчивость к инфекции	Восприимчивость к инфекции (связанная с повышенным распадом белков?)
Ткани	Снижение QO_2 печени, почек, мышц и т. д.	Повышение QO_2 тех же тканей
	Нормальное QO_2 мозга, семенников, сетчатки глаза и т. д.	Нормальное QO_2 тех же тканей
	Снижение чувствительности некоторых тканей к адреналину	Потенцирование эффектов адреналина тиронинами
Органеллы	Увеличение числа митохондрий в клетке	Увеличение числа митохондрий в клетке
	Уменьшение числа β-рецепторов на плазматической мембране	Увеличение числа β-рецепторов на плазматической мембране
Компоненты органелл		Набухание митохондрий (влияние на митохондриальную мембрану?)

Продолжение

Уровень организации	Гипотиреоз	Гипертиреоз
Ферменты	Снижение активности окислительных ферментов на единицу массы митохондрий Снижение активности Na^+, K^+-АТФазы, НАДФ-малатдегидрогеназы, α-ГФДГ и др.	Повышение активности окислительных ферментов у животных, хронически получающих тиреоидные препараты Повышение активности Na^+, K^+-АТФазы и др.

влияние тиреоидных гормонов на мозг осуществляется без изменений потребления кислорода, и это открывает поле для дальнейших исследований.

Клеточные механизмы действия тиреоидных гормонов

Механизм действия тиреоидных гормонов не укладывается в обычные схемы, разработанные для стероидных гормонов, аминов и пептидных гормонов. От аминов и пептидов тиреоидные гормоны резко отличаются своей растворимостью в липидах, чем напоминают стероидные гормоны. Поэтому нет оснований полагать, что липиды бислоя плазматической мембраны препятствуют проникновению тиреоидных гормонов в клетку.

Необходимо проводить различие между ролью тиреоидных гормонов в процессе *дифференцировки*, что ярко проявляется при метаморфозе у амфибий или неонатальном развитии центральной нервной системы у человека, и их ролью в *поддержании функций полностью дифференцированных клеток*. У млекопитающих, включая человека, калоригенез в условиях гипотиреоза недостаточен, а при гипертиреозе — превышает норму. Калоригенез представляет собой *индикатор* функционального состояния клетки. (Далее цифры в скобках соответствуют таковым на рис. 10-6.)

(1) Периферическое деиодирование T_4 и T_3

Периферические ткани, в частности гипофиз, печень и почки, содержат деиодиназный ферментный комплекс, сопряженный с системой генерации НАДФ·Н и превращающий T_4 в T_3. При введении меченного радиоактивным изотопом T_4 в ядрах чувствительных клеток накапливается менее 15% метки. Большая часть меченого гормона, связывающегося в ядрах, пред-

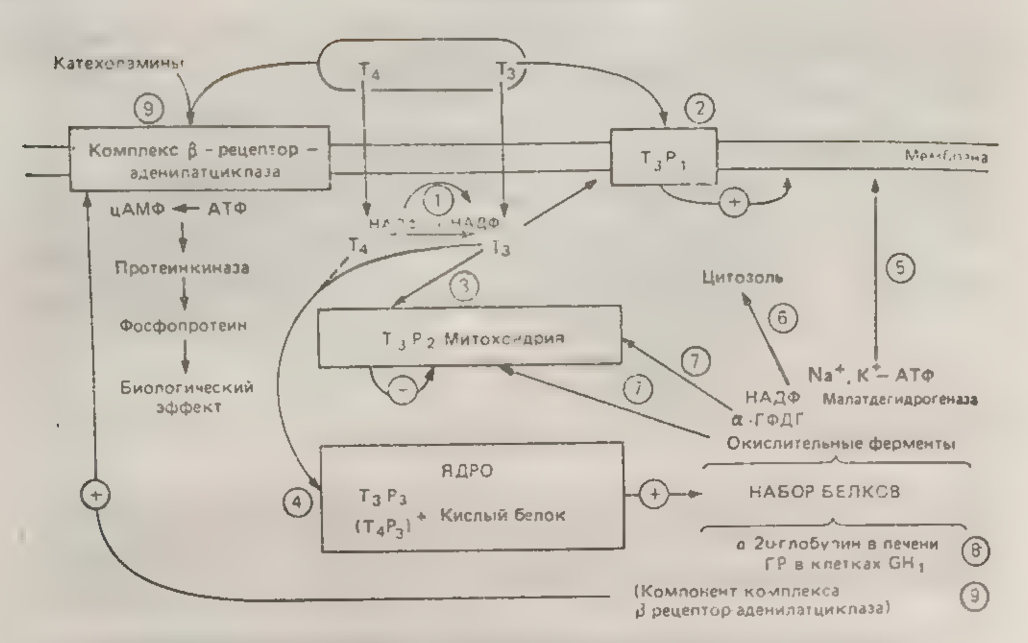


Рис. 10-6. Клеточные механизмы действия тиреоидных гормонов. Р — рецептор, ГР — гормон роста.

ставлена T_3. Деиодирование T_4 с образованием T_3 в гипофизе необходимо для проявления того хронического снижения чувствительности этого органа к стимулирующему действию ТРГ, которое наблюдается после введения T_4.

Тем не менее T_4 связывается с ядерными рецепторами тиреоидных гормонов (см. ниже), хотя и с меньшим сродством, чем T_3, и поэтому может влиять на процессы, происходящие в клеточном ядре. Существует по крайней мере один случай, когда биологически активной формой гормона оказывается именно T_4: это головастики перед метаморфозом. Действительно, у этих животных деиодиназа, обусловливающая синтез T_3, отсутствует до завершения процесса дифференцировки, индуцируемого T_4. Существует ли аналогичная стадия эмбрионального развития у млекопитающих — неизвестно.

Разработка специфических радиоиммунологических методов определения T_4, T_3, реверсивного T_3 (pT_3) и их деиодированных продуктов позволила подробно проанализировать деградацию тиреоидных гормонов в периферических тканях. Общая схема приведена на рис. 10-7.

Практически весь содержащийся в крови T_4 имеет тиреоидное происхождение. В то же время бо́льшая часть содержащегося в крови T_3 образуется в результате деиодирования T_4 в периферических тканях. Этот T_3 может задерживаться клетками, связываясь специфическими рецепторами, но некоторая его часть диффундирует обратно в общий кровоток. Как уже

упоминалось, в двух случаях, а именно при гипертиреозе и дефиците иода, щитовидная железа секретирует T_3 в большем количестве, что объясняется относительным преобладанием в этих условиях моноиодтирозина над дииодтирозином.

В тканях, чувствительных к T_4, присутствуют два различных деиодирующих фермента: деиодиназа наружного кольца, которая катализирует образование T_3, и деиодиназа внутреннего кольца, катализирующая образование рT_3 (см. рис. 10-7). Реверсивный T_3 либо не обладает калоригенным действием, либо слабо противодействует влиянию T_3 и поэтому уменьшает периферические эффекты тиреоидных гормонов.

Деиодирование наружного кольца (образование T_3) может быть заторможено в разнообразных ситуациях, даже при нормальном функционировании системы гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа. К таким ситуациям относятся: тяжелые заболевания или травмы, голодание или безуглеводная диета, введение глюкокортикоидов, введение иодсодержащих препаратов (например, рентгеноконтрастных веществ), введение β-адреноблокаторов, лечение пропилтиоурацилом (кроме гипофиза), тяжелые поражения печени или почек; синтез T_3 в периферических тканях снижен также у плода человека.

Напротив, при ожирении имеет место тенденция к *ускорению* превращения T_4 в T_3.

На основании этих данных, ингибирование или активация деиодирования наружного кольца T_4 рассматриваются как адаптивный механизм. Одно из последствий голодания (а недоедание является характерной чертой многих заболеваний) заключается в снижении основного обмена. В этих условиях замедление образования T_3 должно быть полезно для сохранения

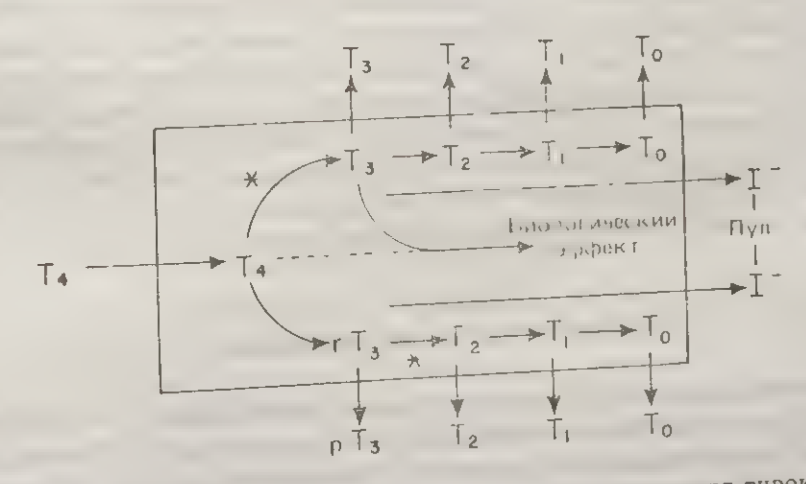


Рис. 10-7. Последовательность периферического деиодирования тироксина (T_4). (Объяснение реакций, отмеченных звездочкой, см. в тексте.)

энергии. Наоборот, при ожирении повышенная скорость образования T_3 может ограничить дальнейшее развитие ожирения, поскольку способствует окислению избытка субстратов (см. гл. 16). Таким образом, механизмы регуляции, функционирующие на этапе превращения T_4 в T_3, имеют важное значение для сохранения энергетического баланса в целостном организме.

При блокаде деиодирования T_4 с образованием T_3 большее количество T_4 становится доступным для системы деиодирования его внутреннего кольца и соответственно образуется больше pT_3. Если дальнейшее деиодирование тоже заторможено (звездочка на рис. 10-7), то его уровень будет возрастать. Хотя уровни T_3 и pT_3 меняются не строго реципрокно, тем не менее направление их сдвигов обычно противоположно.

Пока нет общепризнанных представлений о механизме сдвига от T_3 к pT_3 при голодании и других условиях. Мы склонны считать, что, поскольку деиодирование наружного кольца требует участия НАДФ·Н, именно доступность этого кофактора может определять скорость реакции. НАДФ·Н образуется при окислении глюкозы по пентозофосфатному пути; следовательно, активность деиодирования T_4 с образованием T_3 может зависеть от доступности глюкозы. Эта гипотеза согласуется с наблюдениями о снижении образования T_3 при голодании и его повышении при переедании.

(2) Действие на плазматическую мембрану

Хотя при изучении механизма действия тиреоидных гормонов основное внимание уделяется процессам, происходящим в клеточном ядре, все же определенно установлено и действие T_3 на плазматическую мембрану (Goldfine et al.). На плазматической мембране клеток, чувствительных к тиреоидным гормонам, обнаружены высокоаффинные участки связывания последних. По-видимому, они неидентичны ядерным рецепторам, изученным более подробно. Основной эффект, наблюдаемый после введения T_3, — стимуляция транспорта аминокислот; этот ответ возникает очень быстро и не требует синтеза РНК или белка.

(3) Действие на митохондрии

Сложная связь между эффектами тиреоидных гормонов и функцией митохондрий изучается уже очень давно. Морфологические и биохимические изменения, возникающие в митохондриях при гипер- и гипотиреозе, настолько очевидны, что гипертиреоз был назван «болезнью митохондрий». Одно время кало-

ригенный эффект T_3 объясняли разобщением окислительного фосфорилирования, но эта точка зрения не получила подтверждения. В митохондриях найдены рецепторы T_3 (Sterling et al., 1984), и после введения T_3 наблюдаются разнообразные морфологические изменения этих органелл, в том числе их резкое набухание. Интересно, что как при гипо-, так и при гипертиреозе в чувствительных к тиреоидным гормонам клетках общая масса митохондрий увеличивается, но концентрация окислительных ферментов на единицу митохондриальной массы при гипотиреозе снижена, а при гипертиреозе, несмотря на возрастание общей массы митохондрий, повышена.

Установлено, что при гипотиреозе транспорт АДФ в митохондрии понижается, а при гипертиреозе — увеличивается. Однако даже при тяжелом тиреотоксикозе клетки способны сохранять концентрацию АТФ примерно на уровне нормы, несмотря на очевидное ускорение гидролиза этого соединения (Sestoft). Кроме того, Стерлинг (Sterling) обнаружил корреляцию между образованием в митохондриях АТФ из меченого АДФ и уровнем тиреоидных гормонов даже при столь низких концентрациях T_3, как 10^{-9} M (эффект гормонов был настолько быстрым, что не мог опосредоваться изменением транскрипции генов). Все эти наблюдения следует пересмотреть в свете последних данных (Beck, Sterling, 1985), согласно которым T_3 связывается с частично очищенной транслоказой адениновых нуклеотидов; этот переносчик АДФ в митохондрии играет важнейшую роль в регуляции скорости окислительного фосфорилирования (стимулирующий эффект АДФ на окислительное фосфорилирование был известен давно). Если бы удалось показать зависимость между связыванием T_3 и активацией транслоказы, то один из интересных аспектов действия тиреоидных гормонов получил бы дополнительное освещение.

Долговременные эффекты тиреоидных гормонов на функцию митохондрий будут рассмотрены ниже в разд. 7

(4) Ядро

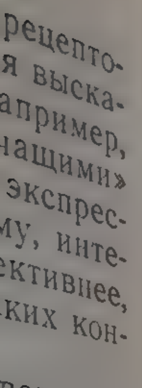
В ядрах чувствительных к тиреоидным гормонам клеток были обнаружены рецепторы, с высоким сродством связывающие T_3 (Oppenheimer).

В целом степень сродства (аффинности) рецепторов к аналогам тиреоидных гормонов соответствует биологической активности этих соединений. Как мы уже упоминали, после пульсового введения радиоактивно меченного T_4 около 85% появляющейся в ядре метки приходится на долю T_3 и менее 15% — на долю T_4. Участки связывания этих гормонов удовлетворяют

принятым критериям, характеризующим гормональные рецепторы, но относительно биологического значения связывания высказывались определенные сомнения (Tata). Странно, например, что большинство рецепторов T_3 ассоциировано с «молчащими» фрагментами генома, т. е. с генами, которые никогда не экспрессируются. Ядерные рецепторы, являющиеся, по-видимому, интегральной частью хроматина, связывают T_3 хотя и эффективнее, чем T_4, но все же они связывают и T_4 при физиологических концентрациях последнего.

Ядерная локализация этих рецепторов поднимает вопрос о путях проникновения жирорастворимых иодтиронинов в клетку и далее к высокоаффинным участкам связывания в ядре и митохондриях. Возможно, что упомянутые выше связывающие места на плазматической мембране играют определенную роль в транспорте гормонов в клетку. Описаны и белки цитозоля, которые связывают гормоны с меньшим сродством, чем белки клеточных органелл; они как раз могли бы функционировать как внутриклеточные молекулярные переносчики.

Старые опыты (Cohen, Frieden) по индукции метаморфоза у амфибий и классический анализ действия тиреоидных гормонов на ядро, проведенный Тата, подтверждают представления о том, что механизм действия тиреоидных гормонов (как и стероидных) включает стимуляцию транскрипции специфических генов и индукцию синтеза, определенного для каждой клетки набора белков (ящик», который на входе связывает гормон, а на выходе дает повышенный синтез РНК, для тиреоидных гормонов не менее черен, чем для стероидов). На рис. 10-8 суммированы данные Тата, полученные на крысах после однократной инъекции им T_3. Шкала времени этих реакций длиннее, чем для стероидных гормонов, но в обоих случаях ядерным событиям предшествуют быстро наступающие изменения внеядерных процессов. Кроме того, в обоих случаях задолго до общей активации ядерных процессов можно наблюдать отдельные ядерные эффекты. Так, в случае T_3 стимуляция синтеза специфических мРНК (идентифицируемых только по транслируемому белковому продукту — появлению пятна на двумерной хроматограмме) наблюдается всего через 20 мин после введения гормона (Narayan). Это напоминает индукцию синтеза специфического белка эстрогенами задолго до появления других белков. Однако рост потребления кислорода (зависимый от транскрипции) достигает половины максимального значения лишь через 50 ч после введения T_3. Как и в случае стероидных гормонов, T_3 индуцирует синтез лишь ограниченного набора мРНК. Рассмотрим, какие это мРНК и как они связаны с проявлениями тиреоидной дисфункции в целостном организме животного или человека.



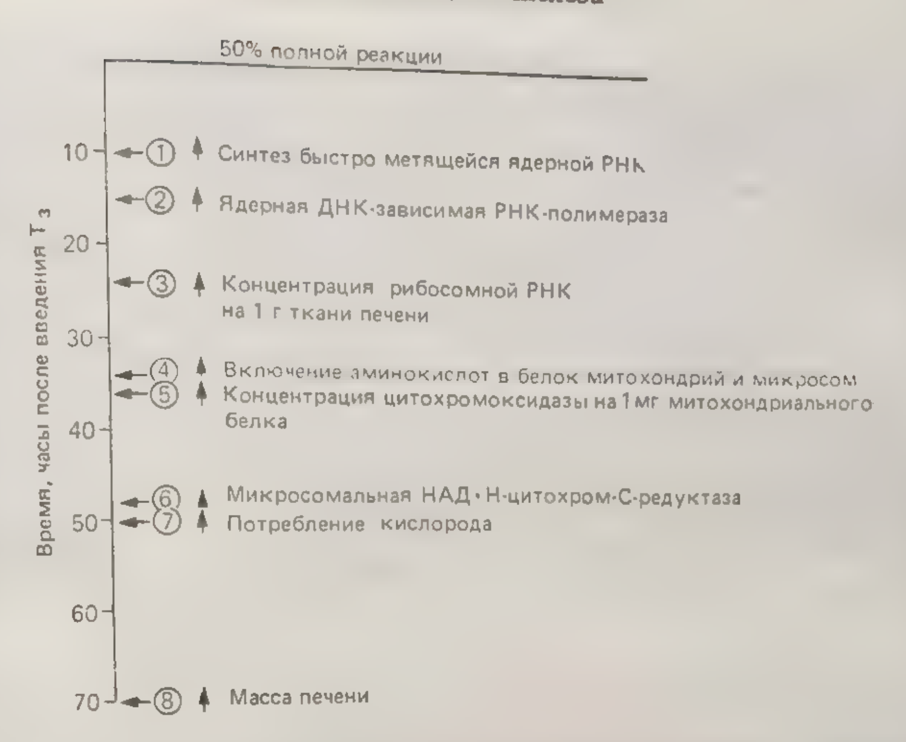


Рис. 10-8. Последовательность реакций после однократного введения иодтиронина (T_3) гипотиреоидным крысам.

(5) Натрий-калиевая-АТФаза

(См. обзор: Guernsey and Edelman.— В кн.: Oppenheimer, Samuels.)

Эдельман и его сотрудники были поражены, когда подсчитали долю метаболической энергии, которая в покое расходуется на осмотическую работу, направленную на сохранение высокой концентрации K^+ и низкой концентрации Na^+ внутри клетки. Градиенты этих ионов по обе стороны плазматической мембраны клетки поддерживаются благодаря функционированию натриевого насоса — Na^+,K^+-АТФазы, обеспечивающей транспорт ионов за счет энергии АТФ. Как показали эти авторы, активность Na^+,K^+-АТФ-азы в почках и мышцах при гипотиреозе снижается, а при гипертиреозе — возрастает. Далее в серии изящных опытов они выявили, что скорость включения меченых аминокислот в обе субъединицы фермента наиболее высока при гипертиреозе, занимает промежуточное положение у контрольных животных и оказывается наиболее низкой при гипотиреозе. Прямых данных о том, что T_3 повышает скорость синтеза мРНК этого фермента не получено, однако опыты по ингибированию синтеза РНК показывают, что дело обстоит именно так; более того, степень занятости ядерных рецепторов T_3 коррелирует с повышением активности Na^+, K^+-АТФазы, вызванным введением гормона.

Хотя влияние гормона на натриевый насос может частично объяснить повышенное потребление кислорода, вызываемое T_3 (увеличение числа единиц насоса⟶повышение утилизации АТФ⟶рост концентрации АДФ⟶стимуляция окислительного фосфорилирования), в настоящее время ясно, что не это служит основной причиной возрастания калоригенеза под действием иодтиронинов. Метаболическая стоимость осмотической работы, по данным разных авторов, широко варьирует: от 15 до 80% базального потребления кислорода. Сестофт (Sestoft) подчеркнул высокую энергетическую стоимость работы сердца при гипертиреозе. Мы склонны согласиться с другими исследователями в том, что при гипертиреозе одновременная стимуляция противоположно направленных метаболических процессов, например липогенеза (см. следующий разд.) и липолиза, оказывается крайне расточительной и дорогостоящей с точки зрения утилизации АТФ; в самом деле, энергия, направляемая на процессы синтеза, бесполезно рассеивается в результате ускорения катаболизма. Такие бесполезные циклы могут вносить существенный вклад в характерное для гипертиреоза увеличение теплопродукции. Дополнительный вклад может вносить ускорение окислительного дезаминирования, обусловленное повышенным распадом белков.

(6), (8) НАДФ-малатдегидрогеназа, α2u-глобулин, гормон роста

Если при изучении механизма действия эстрогенов можно воспользоваться удобной моделью — системой синтеза овальбулина в яйцеводах птиц, то в случае тиреоидных гормонов такая модель отсутствует и исследователи вынуждены анализировать индуцируемые белки, которые составляют лишь малую долю белков, синтезируемых клеткой. Несмотря на эти трудности, все же удалось установить, что тиреоидные гормоны, подобно стероидам, стимулируют транскрипцию специфических генов, в частности тех, которые кодируют НАДФ-малатдегидрогеназу (цитозольный фермент, выполняющий функцию генератора НАДФ·Н для процессов липогенеза) и α2u-глобулин (белок, экскретируемый в больших количествах с мочой у грызунов) в печени, а также гормон роста в культуре клеток GH_1. Все методы современной молекулярной биологии, ранее использованные при анализе механизма действия стероидных гормонов, включая титрование мРНК с помощью ДНК (Magnuson), с успехом применялись для изучения эффектов T_3. На эту тему опубликован ряд обзоров (наиболее важны обзоры: Towte, Roy, Goodridge, а также Mariash and Oppenheimer.— В кн.: Oppenheimer and Samuels).

НАДФ-малатдегидрогеназа (подробнее см. гл. 14) — один из многих ферментов липогенеза, активность которых возрастает при потреблении углеводов. Другие ферменты липогенеза — ацетил-КоА-карбоксилаза и синтетаза жирных кислот — тоже, хотя и в меньшей степени, индуцируются тиреоидными гормонами, равно как и инсулином. Считается, что инсулин влияет на транскрипцию генов ферментов липогенеза не прямо, а путем повышения количества глюкозы, поступающей в липогенные клетки (гепатоциты, адипоциты). (Вопрос об участии второго посредника, образующегося при действии инсулина, остается открытым. Если сигналом для нового синтеза ферментов и служит какое-то вещество, образующееся при ускоренном окислении глюкозы, то оно не идентифицировано.) В любом случае инсулин и T_3 повышают синтез мРНК НАДФ-малатдегидрогеназы, действуя синергично. При этом неизвестно, обеспечивает ли инсулин положительный индуктивный сигнал для синтеза фермента, или он просто снимает ингибиторное влияние. Так или иначе, но «партнерство» T_3 и инсулина в данном эффекте служит лишь одним из многих примеров совместного действия гормонов с участием T_3.

Индукция новых мРНК гормона роста под влиянием T_3 отчетливо потенцируется глюкокортикоидами надпочечников. Подобно этому, и индукция синтеза α2u-глобулина, подробно исследованная Фейгельсоном (Feigelson), Роем (Roy) и др., — сложный процесс, в котором участвует не менее *четырех* гормонов: T_3, тестостерон, глюкокортикоиды и гормон роста. Кроме того, T_3 усиливает эффекты гормонов на транскрипцию других генов: глутамин-синтазы (синергизм с гормоном роста и глюкокортикоидами), синтазы δ-аминолевулиновой кислоты в печени (с инсулином, глюкокортикоидами) и α-лактальбумина в эксплантатах молочной железы.

Мы не можем объяснить на молекулярном уровне механизм, посредством которого различные гормоны, метаболиты углеводного обмена (?) и кофакторы (?) кооперативно влияют на хроматин, «открывая» участки генома для транскрипции. Вероятно, каждая комбинация гормонов может обладать особым механизмом действия. В целом можно себе представить, что взаимодействие одного гормона с хроматином придает «открытому» участку ДНК большую восприимчивость к другому сигналу, стимулирующему транскрипцию. Пока не будут подробнее выяснены механизмы «включения» и «выключения» генов (компонентами этих механизмов могут быть фосфорилирование регуляторных белков, а также, вероятно, другие обратимые модификации, например ацетилирование — деацетилирование и метилирование — деметилирование), только в таких туманных выражениях и можно описать основу совместных гормональных эффектов на

экспрессию генов — эффектов, которые, по-видимому, гораздо ближе к «реальной жизни», чем столь часто обсуждаемые здесь модели действия одного гормона.

(7), (8) Митохондриальная α-глицерофосфатдегидрогеназа, ферменты окислительного фосфорилирования и другие

В разд. (3) мы уже рассматривали прямое воздействие T_3 на функцию митохондрий, не требующее ни синтеза белка, ни транскрипции генов. Известно, что активность окислительных ферментов (сукцинатдегидрогеназы, цитохромоксидазы) снижается при гипотиреозе и возрастает при гипертиреоидных состояниях. Позднее было установлено, что T_3 вызывает избирательное повышение активности митохондриальной α-глицерофосфатдегидрогеназы (α-ГФДГ на рис. 10-6) в несколько раз. Поскольку более 90% митохондриальных белков кодируется ядерными генами, влияние на эти ферменты опосредуется взаимодействием T_3 с рецепторами ядра (P_3 на рис. 10-6). Таким образом, долговременные воздействия T_3 на митохондрии относятся к той же категории, что и воздействия на Na^+,K^+-АТФазу, НАДФ-малатдегидрогеназу, α2u-глобулин и гормон роста, т. е. опосредуются повышением скорости образования специфических мРНК. Все эти эффекты являются частью той глубокой координированной перестройки метаболизма клетки, которая возникает под действием T_3 и включает: быстрое изменение мембранных процессов (транспорт аминокислот, транслоказа адениновых нуклеотидов), долгосрочный эффект на мембранный транспорт (Na^+,K^+-АТФаза), изменение активности ферментов цитозоля (ферменты липогенеза) и митохондрий и, наконец, такую модификацию клетки, которая делает ее более чувствительной к β-миметическим эффектам катехоламинов (см. следующий раздел).

(9) Тиреоидные гормоны и катехоламины

Многие признаки и симптомы гипертиреоза позволяют предположить, что при данном заболевании повышается активность симпатического отдела вегетативной нервной системы. Наиболее отчетливо это видно на примере сердечно-сосудистой системы: возникают сердцебиения, тахикардия, аритмии, дилатация и гипертрофия сердца, повышение его сократимости и минутного объема, увеличение пульсового давления (систолическое минус диастолическое артериальное давление) и сердечная недостаточность. Кроме того, дисфункцией автономной нервной системы могут объясняться тремор и мышечная слабость, возбуждение и тревога, а также диарея. В относительно старых

работах было показано, что препараты, снижающие функцию симпатической нервной системы (резерпин и гуанетидин), часто смягчают перечисленные выше симптомы, хотя и не влияют на другие признаки гипертиреоза, например повышенное потребление кислорода и повышенную концентрацию тиреоидных гормонов в крови. Эти вещества, однако, обладали рядом нежелательных побочных эффектов и были заменены β-блокаторами — пропранололом и аналогичными средствами, которые в настоящее время широко используются для лечения гипертиреоза.

На изучение проблемы о взаимоотношениях тиреоидных гормонов и катехоламинов были затрачены большие усилия, и все же до сих пор не ясно, почему многие проявления избытка тиреоидных гормонов исчезают под действием β-блокатора — пропранолола. Концентрация катехоламинов *в крови* при гипертиреозе оказалась сниженной. Поэтому кажущееся гиперадренергическое состояние, характерное для гипертиреоза, должно быть связано с процессами, протекающими в окончаниях симпатических нервов, либо в чувствительных к катехоламинам клетках или же на обоих уровнях.

Вилльямс и др. (Williams et al.) обнаружили, что при введении тиреоидных гормонов в мембранах клеток сердечной мышцы повышается число β-рецепторов. Однако авторы остереглись приписать это прямому действию тиреоидных гормонов на синтез β-рецепторов, поскольку увеличение популяции β-рецепторов могло определяться и снижением концентрации катехоламинов в крови («повышающая регуляция»). Не исключено, однако, что индуцируемая тиреоидными гормонами транскрипция ДНК включает и транскрипцию участков, кодирующих компоненты комплекса β-рецепторы-аденилатциклаза. Это не обязательно означает повышение синтеза самих рецепторов: возможно влияние на сопрягающий механизм или фосфолипидное окружение комплекса.

Другое интересное предположение высказал Дратман (Dratman). Он привлек внимание к тому факту, что как катехоламины, так и тиреоидные гормоны являются аналогами тирозина и поэтому могли бы подвергаться действию одних и тех же ферментов (рис. 10-9). Согласно этой гипотезе, аналоги норадреналина и адреналина, образовавшиеся из тиреоидных гормонов, могут функционировать как псевдокатехоламины, взаимодействуя с β-рецепторами. Дратман показал, что тироксин может не только служить субстратом тирозингидроксилазы, но и накапливаться (судя по концентрации метки) в окончаниях адренергических нервов (синаптосомах).

Следовательно, эффект пропранолола может объясняться блокадой рецепции либо природных катехоламинов, либо образующихся из тироксина псевдомедиаторов. Очевидно, пропранолол

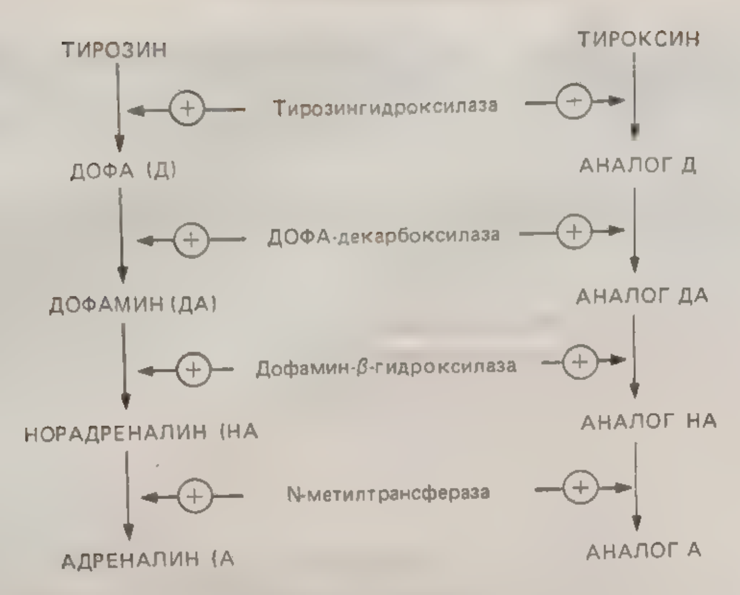


Рис. 10-9. Катехоламиновые аналоги тиреоидных гормонов (по M. Dratman).

может блокировать как «нормальный», так и гиперреактивный комплекс рецептор-аденилатциклаза. Наконец, существует и другой эффект пропранолола, способный объяснить какую-то долю очевидного смягчения им «адренергических» симптомов гипертиреоза, а именно: пропранолол тормозит превращение T_4 в T_3 в периферических тканях. Поскольку T_3 обладает большей метаболической активностью, чем T_4, и поскольку в тканях при гипертиреозе возрастает превращение T_4 в T_3, снижение синтеза T_3 могло бы играть определенную роль в положительных эффектах пропранолола. Таким образом, на старый вопрос о роли катехоламинов в возникновении тех симптомов, которые смягчаются под действием пропранолола, можно, вероятно, дать не один, а несколько ответов.

Фармакология системы гипофиз — щитовидная железа и гиперфункции щитовидной железы

Лекарственные средства могут влиять на отдельные этапы иодного цикла. Некоторые препараты используют при гипертиреозе для снижения продукции или ослабления эффектов тиреоидных гормонов, другие — для диагностики.

Иод

Иод был первым по-настоящему эффективным антитиреоидным средством, применявшимся для предоперационной подготовки больных гипертиреозом. При введении больших доз иода

Тиоурацил Пропилтиоурацил Метимазол

Рис. 10-10. Некоторые средства, широко применяемые для лечения заболеваний щитовидной железы.

возникает резистентность щитовидной железы к действию ТТГ и, вероятно, ТТГ-подобных глобулинов (эффект Вольфа — Чайкова). Хотя имеется много гипотез относительно механизма данного эффекта, ни одно из предлагаемых объяснений нельзя считать полностью удовлетворительным. У здоровых людей и животных действие иода кратковременно; щитовидная железа, по-видимому, способна адаптироваться к новому уровню I^- в окружающей ее среде. Однако при гиперфункции железы эффект оказывается более длительным, и предоперационная подготовка соответствующих больных включает применение как ингибиторных количеств иодида, так и других антитиреоидных средств.

Средства, нарушающие синтез тиреоидных гормонов

К этим средствам относятся блокаторы захвата I^- — перхлорат и тиоционат (упомянутые выше), а также блокаторы синтеза гормонов, такие, как пропилтиоурацил и метимазол. Блокаторы захвата действуют как конкурентные ингибиторы транспорта I^-. Хотя они и не применяются в лечебных целях, тем не менее имеют определенное значение в радиационной медицине.

Структура антитиреоидных средств тиоуриленовой группы показана на рис. 10-10, где выделены их общие черты. Механизм действия этих соединений сложен: они тормозят реакции, катализируемые тиреоидной пероксидазой (см. рис. 10-5), а именно: окисление I^- и конденсацию остатков тирозина. Они могут ингибировать и деиодиназу щитовидной железы. Недавно было показано, что пропилтиоурацил тормозит деиодирование T_4 и в периферических тканях (кроме гипофиза).

Антиадренергические средства, такие, как пропранолол (см. предыдущий раздел), применяются не для лечения самого гипертиреоза как основного заболевания, а лишь для ослабления многих его симптомов, опосредованных катехоламинами. При использовании этих средств высокая концентрация тиреоидных гормонов в крови сохраняется. Если эффект производных тиомочевины проявляется только спустя несколько недель после начала их применения, то пропранолол обладает быстрым

действием. Эта его способность быстро смягчать симптомы заболевания часто оказывается весьма полезной, а иногда даже жизненно необходимой.

Средства, влияющие на тироксин-связывающий глобулин (ТСГ)

Значение таких веществ заключается в том, что они могут искажать результаты диагностических лабораторных исследований. Например, салицилаты и дифенилгидантоин (противосудорожное средство) вытесняют T_4 из комплекса с ТСГ сыворотки и тем самым обусловливают заниженные величины связанного T_4, определяемого в крови здоровых лиц. В таких условиях контролем может служить общее содержание ТСГ в крови, которое не меняется.

В других случаях определенные факторы стимулируют или тормозят *скорость синтеза ТСГ в печени*, что приводит к повышению или понижению показателей содержания T_4 в сыворотке. Эстрогены, контрацептивные препараты и беременность — все эти факторы *повышают* концентрацию ТСГ в плазме, тогда как андрогены и глюкокортикоиды в фармакологических дозах *снижают* уровень ТСГ. Во всех этих случаях у здоровых людей отсутствуют значительные изменения уровня *свободного* T_4 в крови, который, безусловно, лучше коррелирует с тиреоидным статусом, чем общее количество гормона в крови.

Содержащие иод рентгеноконтрастные вещества и другие соединения иода не мешают определению концентрации тиреоидных гормонов в крови при использовании современных методов, однако могут искажать результаты при исследовании поглощения радиоактивного иода щитовидной железой.

Диагностика врожденного гипотиреоза

Врожденный гипотиреоз представляет собой наиболее частую причину задержки психического развития, которая поддается полному излечению. Однако если лечение этого состояния не начать в первые три месяца жизни, то эффективность терапии и возможность достижения коэффициента интеллектуальности (IQ), равного или большего 85—90, резко падает. В одном исследовании, например у 14 из 19 детей, лечение которых было начато до 3-месячного возраста, коэффициент интеллектуальности достиг 90, тогда как при более позднем начале лечения лишь у 30% детей данный показатель достиг аналогичной величины. О важности проблемы говорит тот факт, что из-за скудности клинических признаков врожденный гипотиреоз у детей до 3-месячного возраста удается диагностировать менее чем в одной трети случаев.

Таблица 10-3. Внутри- и внетиреоидные дефекты метаболизма[1)]

- Внутритиреоидные нарушения
  - Сниженная чувствительность к ТТГ (рецепторы?)
  - Нарушение транспорта или «утечка» иода
  - Сниженная активность тиреоидной пероксидазы
    - Замедление превращения I^- в I^+
    - Замедление конденсации
  - Сниженное образование H_2O_2
  - Аномалии тиреоглобулина
    - Нарушения синтеза белка
    - Нарушенная секреция в фолликулах
    - Нарушенная резорбция, резистентность к действию протеазы
  - Недостаточность внутритиреоидной деиодиназы, потери моно- и диодтирозина с мочой
- Внетиреоидные нарушения
  - Снижение секреции или неэффективность ТТГ
  - Нарушения процессов транспорта
  - Нарушение деиодирования T_4 с образованием T_3 в периферических тканях
  - Сниженная чувствительность тканей-мишеней к T_4 и(или) T_3
  - Избыточная потеря T_4 и T_3 из-за повышения скорости их метаболизма и экскреции

1) По DeGroot L. J., Niepomniszcze H. (1977). *Metabolism*, 26, 665

Получение высокоспецифической антисыворотки к ТТГ позволило разработать радиоиммунологический метод определения этого гормона; оно производится в пятне крови на кусочке фильтровальной бумаги. Большой опыт использования этого и других тестов (таких, как определение уровня T_4 в сыворотке) показал, что гипотиреоз у новорожденных можно выявлять с высокой степенью точности (Klein, Fisher).

Врожденные дефекты системы гипофиз — щитовидная железа

Исследование мутаций у человека позволило получить данные, подтверждающие те общие представления о функционировании системы гипофиз — щитовидная железа, которые были основаны на результатах опытов на животных. Помимо лиц с врожденным отсутствием щитовидной железы, что может быть дефектом развития, обнаружены люди с большей или меньшей степенью клинического гипотиреоза, обусловленного разнообразными биохимическими дефектами. Последние можно разделить на внутритиреоидные и внетиреоидные нарушения метаболизма (табл. 10-3).

У лиц с любым из этих дефектов, как правило, проявляются симптомы и лабораторные признаки гипотиреоза. За исключением трех внетиреоидных дефектов (транспорта, деиодирова-

ния, тканевого ответа на T_4 или T_3; см. табл. 10-3), такие нарушения поддаются коррекции при заместительной терапии тиреоидными гормонами. Если некоторые из перечисленных «экспериментов природы» встречаются крайне редко, то другие, например нарушения органификации и конденсации (напоминающие эффекты антитиреоидных средств), уже не считаются редкими. В целом эти дефекты аналогичны таким феноменам, как мутации клеток in vitro, сопровождаемые изменением ответа на катехоламины и глюкокортикоиды (см. гл. 3), или нарушения синтеза стероидных гормонов у человека (см. гл. 11).

Литература[1]

Arimura A., Schally A. V. (1976). Increase in basal and TRH-stimulated secretion of TSH by passive immunazation with antiserum to somatostatin in rats, Endocrinology, **98**, 1069.

Beck J. C., Sterling K. (1985). The role of adenine nucleotide transferase (AdNT) in the early hormonal stimulation of mitochondrial oxidative phosphorylation by the thyroid hormone triidothyronine (T_3), Endocr. Soc. (abstract.), 1118.

Burman K. D., Baker J. R. (1985). Immune mechanisms in Graves' disease, Endocr. Rev., **6**, 183.

Cavalieri R. R., Rapoport B. (1977). Impaired peripheral conversion of thyroxine to triiodothyronine, Ann. Rev. Med., **28**, 57.

Chopra I. J., Hershman J. M., Pardridge E. M. et al. (1983). Thyroid function in nonthyroidal illnesses, Ann. Intern. Med.,**98**, 946.

Cohen P. P. (1970). Biochemical differentiation during amphibian metamorphosis, Science, **168**, 533.

Cooper D. S. (1984). Antithyroid drugs, N. Engl. J. Med., **311**, 1353.

Danforth E. Jr., Burger A. (1984). The role of thyroid hormones in the control of energy expenditure, Clin. Endocrinol. Metab., **13**, 581.

Davies T. F. (1983). Diseases of the TSH receptor, Clin. Endocrinol. Metab., **12**, 79.

DeGroot L. J., Niepomniszcze H. (1977). Biosynthesis of thyroid hormone: Basis and clinical aspects, Metabolism, **26**, 665.

DeGroot L. J., Larsen P. R., Refetoff S. et al. (1984). The Thyroid and Its Diseases, New York, John Wiley & Sons.

DeVisscher M. (ed.) (1980). The thyroid gland. In: Martini L. (ed.). Comprehensive Endocrinology Series, New York, Raven Press.

Dratman M. B. (1974). On the mechanism of action of thyroxine, and amino acid analogue of tyrosine, J. Theor. Biol., **46**, 255.

Dratman M. B., Crutchfield F. L., Axelrod J. (1976). Localization of triiodothyronine in nerve ending fractions of rat brain, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **73**, 941.

Edelman I. S., Ismail-Beigi F. (1974). Thyroid thermogenesis and active sodium transport, Recent. Prog. Horm. Res., **30**, 235.

Goldfine I. D., Simons C. G., Ingbar S. H. (1975). Stimulation of uptake of aminoisobutyric acid in rat thymocytes by L-triidothyronine: A comparison with insulin and dibutyryl cyclic AMP, Endocrinology, **96**, 802.

Greenspan F. S., Forsham P. H. (eds.) (1983). Basic and Clinical Endocrinology, Los Altos, California, Lange Medical Publications.

[1] См. примечание на с. 40.

Hamada S., Fukase M. (1976). Demonstration and some properties of cytosol binding protein for thyroxine and triidothyronine in human liver, J. Clin. Endocrinol. Metab., **42**, 302.

Ingbar S. H., Braverman L. E. (eds.) (1984). The Thyroid. Philadelphia, Harper & Row.

Jackson I. M. D. (1982). Thyrotropin-releasing, N. Engl. J. Med., **306**, 145.

Klein A. H., Fisher D. A. (1977). Thyroid function in the neonatal period. In: Kelley V. C. (ed.). Practice of Pediatrics, New York, Harper & Row.

Klein I., Level G. S. (1984). New perspectives on thyroid hormone, catecholamines, and the heart, Am. J. Med., **76**, 167.

Kohn L. D., Aloij S. M., Tombaccini D. et al. (1985). The thyrotropin receptor. In: Litwack G. (ed.). Biochemical Actions of Hormones, vol. 14, Orlando, Florida, Academic Press.

Kurtz D. T., Feigelson P. (1978). Multihormonal control of the messenger RNA for hepatic protein globulin. In: Litwack G. (ed.). Biochemical Actions of Hormones, vol. 5. New York, Academic Press, p. 433.

Larsen P. R. (1982). Thyroid-pituitary interaction: Feedback regulation of thyrotropin secretion by thyroid hormones, N. Engl. J. Med., **306**, 23.

Larsen P. R., Silva J. E., Kaplan M. M. (1981). Relationship between circulating and intracellular thyroid hormones: Physiological and clinical implications, Endocr. Rev., 87.

Lever E. G., Medeiros-Neto G. A., DeGroot L. J. (1983). Inherited disorders of thyroid metabolism, Endocr. Rev., **4**, 213.

Levey G. S. (1976). The adrenergic nervous system in hyperthyroidism: Therapeutic role of beta adrenergic blocking drugs, Pharmacol. Ther., **1**, 431

Lissitzky S., Fayet G., Verrier B. (1973). Thyroid stimulating hormone binding to cultured cells, FEBS Lett, **29**, 20.

Lo C. S., Edelman I. S. (1976). Effect of triidothyronine on the synthesis and degradation of renal cortical ($Na^{+}+K^{+}$)-adenosine triphosphatase, J. Biol. Chem , **251**, 7834.

Magnuson M. A., Nikodem V. M. (1983). Molecular cloning of a cDNA sequence for rat liver enzyme, J. Biol. Chem., **258**, 12712.

Malbon C. C., Moreno F. J., Cabelli R. J. (1978). Fat cell adenylate cyclase and β adrenergic receptors in altered thyroid states, J. Biol. Chem., **253**, 671.

Martin T. F. J., Kowalchyk J. A. (1984). Evidence for the role of calcium and diacylglycerol as dual second messengers in thyrotropin-releasing hormone action: Involvement of diacylglycerol, Endocrinology, **115**, 1517.

Narayan P., Liaw C. W., Towle H. C. (1984). Rapid induction of a specific nuclear mRNA precursor by thyroid hormone, Proc. Natl. Aead. Sci. USA, **81**, 4687

Nunez J. (1984). Effects of thyroid hormones during brain differentiation, Mol. Cell. Endocrinol., **37**, 125.

Nunez J., Pommier J. (1982). Formation of thyroid hormones. Vitam. Horm., **39**, 175.

Oppenheimer J. H. (1985). Thyroid hormone action at the nuclear level, Ann. Intern. Med., **102**, 374.

Oppenheimer J. H., Samuels H. H. (eds.) (1983). Molecular Basis of Thyroid Hormone Action, New York, Academic Press.

Petrick P., Weintraub B. D. (1985). Inappropriate secretion of TSH. In: Krieger D, Bardin W. (ed.). Current Therapy in Endocrinology and Metabolism, Philadelphia, B. C. Decker.

Pliam W. B., Goldfine I. D. (1977). High affinity thyroid hormone binding sites or purified rat liver plasma membranes, Biochem. Biophys. Res. Commun., **79**, 166

Portnay G. I., McClendon F. D., Bush J. E. et al. (1973). The effect of physiological doses of thyroxine on carrier-mediated ADP uptake by liver mitochondria from thyroid-ectomized rats, Biochem. Biophys. Res. Commun., **55**, 17.

Scanlon F., Chan V., Heath M. et al. (1981). Dopaminergic control of thyrotropin α subunit, thyrotropin β subunit and prolactin in euthyroidism and hypothyroidism: Dissociated responses to dopamine receptor blockade with metoclopramide in hypothyroid subjects, J. Clin. Endocrinol. Metab., **53**, 360.
Segal J., Gordon A., Gross J. (1976). Evidence that L-riiodothyronine (T_3) exerts its biological action not only through its effects on nuclear activity. In: Robbins J., Braverman L. E. (eds.). Thyroid Research, New York, Elsevier North-Holland, Inc., p. 331.
Sestoft L. (1980). Metabolic aspects of the calorigenic effect of thyroid hormone in mammals, Clin. Endocrinol., **13**, 489.
Shapiro L. E., Samuels H. H., Yaffe B. M. (1978). Thyroid and glucocorticoid hormones synergistically control growth hormone mRNA in cultured GH_1 cells, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **65**, 45.
Shiroozu A., Taurog A., Engler H. et al. (1983). Mechanism of action of thioureylene antithyroid drugs in the rat: Possible inactivation of thyroid peroxidase by propylthiouracil, Endocrinology, **113**, 362.
Sterling K. (1979). Thyroid hormone action at the cell level, N. Engl. J. Med., **300**, 117.
Sterling K., Campbell G. A., Taliadouros G. S. et al. (1984). Mitochondrial binding of triiodothyronine (T_3), Cell. Tiss. Res., **236**, 321.
Tata J. R. (1975). How specific are nuclear receptors for thyroid hormones? Nature, **257**, 18.
Williams L. T., Lefkowitz R. J., Watanabe A. M. et al. (1977). Thyroid hormone regulation of adrenergic receptor number, J. Biol. Chem., **252**, 2787.
Woeber K. A., Braverman L. E. (1985). The thyroid, Contemp. Endocrinol., **2**, 87.

Часть VI

НАДПОЧЕЧНИКИ

Глава 11

АКТГ и глюкокортикоиды надпочечников

Некоторые хронологические вехи в изучении коры надпочечников

Дата		*Исследователи*
1563	Впервые описаны надпочечники	Евстахий (Eustachius)
1855	Описана недостаточность надпочечников у человека	Аддисон (Addison)
1856	Описана гибель собак после адреналэктомии	Броун-Секар (Brown-Séquard)
1895—1904	Открыт адреналин (потерян интерес к корковому слою)	Оливер (Oliver), Шефер (Schaefer), Абель (Abel), Такамине (Takamine), Штольц (Stolz)
1910	Описана гипогликемия при аддисоновой болезни	Порджес (Porges)
1923	Описана атрофия надпочечников у гипофизэктомированных крыс	Смит (Smith)
1927	Получен первый активный экстракт коры надпочечников	Хартман (Hartman), Пфиффнер (Pfiffner), Свингл (Swingle)
1927	Отмечен низкий уровень Na и повышенный уровень K в сыворотке собак	Бауман (Bauman), Курланд (Kurland)
	Увеличена продолжительность жизни адреналэктомированных собак с помощью NaCl	Марине (Marine)
1932	Увеличена продолжительность жизни людей, страдающих аддисоновой болезнью, посредством введений соли	Лёб (Loeb) и др., Харроп (Harrop) и др.
1932—1938	У животных с недостаточностью надпочечников выявлены нарушения углеводного обмена	Бриттон (Britton) и др., Лонг (Long) и др.
1936	Описана реакция тревоги	Селье (Selye)
1938	Синтезирован дезоксикортикостерон	Рейхштейн (Reichstein)
1948	Осуществлен частичный синтез кортизона	Сарет (Sarett) и др.
1949	Впервые использован кортизон в качестве противовоспалительного средства при ревматоидом артрите	Хенч (Hench), Кендалл (Kendall)
1952	Открыт альдостерон	Симпсон (Simpson) и Тейт (Tait)
1954	Расшифрована аминокислотная последовательность АКТГ	Белл (Bell)
1955	Описан первичный альдостеронизм	Конн (Conn)
1961	Синтезирован АКТГ	Хофманн (Hofmann)
1981	Идентифицирован и синтезирован КРФ	Вейл (Vale) и др.

Интерес врачей к физиологии коры надпочечников связан с широким кругом заболеваний. Недостаточность (болезнь Аддисона) и гиперфункция (болезнь Кушинга) надпочечников встречаются не слишком часто, но в связи с увеличением точности диагностических методов и бурным ростом народонаселения они уже не считаются редкими заболеваниями. Кроме того, хорошо известны врожденные дефекты метаболизма в клетках надпочечников, которые проявляются рядом синдромов, объединяемых термином «врожденная гиперплазия надпочечников». Подобно клеткам других эндокринных желез, клетки надпочечников иногда подвергаются метаплазии и образуют опухоли, сопровождающиеся разнообразными клиническими нарушениями. Характер последних зависит от того, какой гормон преимущественно синтезируется опухолевыми клетками. Одни из них вырабатывают избыточное количество задерживающего соль альдостерона (см. ниже). Другие в избытке продуцируют андрогенные или эстрогенные стероиды, что обусловливает симптоматику «передозировки» соответствующих соединений.

Кроме того, известно, что надпочечники играют важную роль в адаптации организма ко многим видам «стрессов», таких, как травма (случайная или хирургическая), тяжелые инфекционные заболевания, интоксикации, и т. п. Механизм участия гормонов надпочечников в этих сложных процессах неясен, а значение многих других гормональных, нервных и пищевых факторов для адаптации только начинает оцениваться; тем не менее и в современных, и в будущих исследованиях этой проблемы должна учитываться деятельность системы гипофиз — надпочечники.

Начиная с 1949 г. для лечения многих заболеваний используются гормоны коры надпочечников (включая и различные синтетические аналоги), обладающие противовоспалительным действием. Способность этих веществ подавлять воспаление относится к числу их наиболее привлекательных свойств. Они широко применяются в терапии ревматоидного артрита, диссеминированной красной волчанки и различных аллергических состояний. Механизм этого действия не совсем понятен. Успешное использование кортикостероидов только в дерматологии и офтальмологии могло бы оправдывать те усилия, которые были затрачены на их открытие и производство.

Недостаточность и избыток гормонов коры надпочечников оказывают глубокое влияние на настроение и даже на приспособленность к реальной жизни. Больные, страдающие аддисоновой болезнью, часто испытывают депрессию или тревогу, причем эти симптомы исчезают при адекватной заместительной терапии гормонами. Применение фармакологических доз кортикостероидов при длительном лечении артрита или других забо-

Рис. 11-1. Глюко- и минералокортикоиды надпочечников.

леваний может вызвать эйфорию или даже явный психоз у лиц, предрасположенных к таким состояниям. Иногда действие на ЦНС коррелирует с изменениями электроэнцефалограммы. Таким образом, едва ли найдется область медицины, где не требовались бы знания физиологии коры надпочечников.

Структура глюкокортикоидов и минералокортикоидов показана на рис. 11-1.

Последствия адреналэктомии

Удаление надпочечников у животных или человека вызывает такие нарушения метаболизма, которые сказываются практически на любом физиологическом процессе. В отсутствие лечения развиваются *слабость* и *быстрая утомляемость*, *гипотензия*, разнообразные *желудочно-кишечные нарушения*, включая анорексию, тошноту, рвоту, боли в животе и понос. Кроме того, возникают эмоциональные расстройства, в том числе тревожное состояние и депрессия; иногда (у человека) наблюдается усиленная *пигментация* кожи. Может иметь место выраженная непереносимость голода; резко падает сопротивляемость к травмам, инфекциям, кровотечению и т. п. У человека недоста-

точность надпочечников может обусловить «адреналовый криз», который характеризуется состоянием прострации и недостаточностью периферического кровообращения. Можно провести некоторые аналоги между недостаточностью надпочечников и сахарным диабетом: оба заболевания обусловлены дефицитом гормонов, требуют длительного еженедельного наблюдения и могут привести к своего рода коллапсу, требующему неотложной врачебной помощи (адреналовый криз и диабетический ацидоз). Наконец, в обоих случаях ухудшение болезни может наступить внезапно как неожиданное следствие травмы или инфекции.

Последствия удаления надпочечников традиционно разделяют на две больших группы: 1) связанные с метаболизмом углеводов и белков, а также со способностью противостоять разнообразным стрессам и 2) связанные с водно-электролитным обменом и способностью реабсорбировать натрий из клубочкового фильтрата, т. е. удерживать этот ион в организме при недостаточном его поступлении. Хотя такое разделение нельзя считать бесполезным, оно может быть и ошибочным, поскольку первичное изменение экскреции электролитов и воды, вызывая тяжелые нарушения кровообращения, способно привести к резким нарушениям углеводного и белкового обмена. Последовательность изменений после адреналэктомии может быть, например, следующей: отсутствие альдостерона⟶потери натрия с мочой⟶дегидратация⟶недостаточность периферического кровообращения⟶тканевая гипоксия⟶распад белка. Нормальное течение метаболических процессов во многом зависит от кровоснабжения клеток, и серьезные гемодинамические сдвиги могут вызвать глубокие изменения метаболизма.

Один из наиболее устойчивых признаков недостаточности надпочечников — это неспособность организма больного (или адреналэктомированного животного) справляться с водной нагрузкой (т. е. выделять большое количество мочи) и, следовательно, предрасположенность к водной интоксикации. Такое нарушение сохраняется, даже если попытаться предотвратить потерю соли с мочой путем гормональной компенсации или добавлением соли в пищу. Однако если использовать не типичные минералокортикоиды, такие, как дезоксикортикостерон, а стероиды — типа кортизола, влияющие на обмен органических веществ, то можно добиться коррекции сдвига.

Как у животных, так и у человека две основные сферы действия гормонов надпочечников — задержка соли и обмен органических веществ — могут быть модифицированы независимо и в разной степени. Альдостерон — основной кортикостероид, задерживающий выведение соли, синтезируется в клубочковой зоне кортикальных клеток. С другой стороны, кортизол (у человека) и кортикостерон (у крыс) — основные глюкокортикоиды,

присутствующие в венозной крови надпочечников, образуются главным образом в пучковой зоне. Когда основной причиной двустороннего разрушения надпочечников служит туберкулез, то при этом развиваются более серьезные нарушения процесса задержки соли, чем при идиопатической недостаточности надпочечников, которая иногда не имеет других проявлений, кроме дефицита глюкокортикоидов. При гипофизэктомии у животных регистрируются многие из тех нарушений метаболизма, которые характерны и для адреналэктомии; однако они не погибают от недостаточности надпочечников, поскольку клубочковая зона, по-видимому, сохраняет способность секретировать достаточные количества альдостерона, чтобы удовлетворить ограниченные потребности в нем. Трофическая регуляция секреторной активности различных зон надпочечников рассматривается в гл. 12.

Влияние недостаточности надпочечников на *водно-электролитный обмен* не сводится только к потере способности почек удерживать натрий. Замедление реабсорбции натрия и хлорида из канальцевой мочи, ведущее к потере соли в условиях нормального или сниженного ее поступления в организм, это лишь наиболее явная сторона нарушения. Другая сторона состоит в задержке калия и повышении его концентрации во внеклеточной жидкости. Увеличение концентрации калия в сыворотке крови обусловлено как снижением его экскреции, так и одновременным выходом из внутриклеточной жидкости организма во внеклеточную. Отчасти это может быть результатом общего влияния дефицита гормонов коры надпочечников на клеточные мембраны, а отчасти — следствием тканевой гипоксии, которая развивается при гемодинамических сдвигах, характерных для данного состояния в отсутствие лечения. С нарастанием потери натрия увеличивается и степень дегидратации организма, а обусловленная этим гипотензия и снижение почечного кровотока вносят свой вклад в накопление не только калия, но и фосфата и небелкового азота в крови. В связи с перечисленными изменениями могут возникать желудочно-кишечные расстройства, такие, как рвота и диарея, что усиливает потерю соли и воды. В результате развитие описанных процессов ускоряется, подобно тому, как это происходит при диабетическом ацидозе.

Подробнее всего изучены те связанные с задержкой соли процессы, которые происходят в почках, однако адреналэктомия, а также соответствующая минералокортикоидная терапия оказывают сильное влияние на потерю соли другими путями. Дезоксикортикостерон — активный соль-задерживающий гормон — не только способствует реабсорбции натрия в почечных канальцах, но и снижает его концентрацию в поте, слюне и секрете слизистой кишечника. Влияние этого гормона на состав пота расширяет представление о значении коры надпочечников

для выживаемости организмов в процессе эволюции. Действительно, тепловое воздействие — мощный стимул секреции альдостерона, который, видимо, подобно дезоксикортикостерону, снижает концентрацию натрия в поте; таким образом, способность гормонов надпочечников задерживать соль в организме играет приспособительную роль не только при пониженном поступлении соли из окружающей среды, но и в условиях, когда высокая температура приводит к усилению потерь соли с потом.

Надпочечники являются жизненно важными органами именно из-за их соль-задерживающей функции. Жизнь людей и животных с недостаточностью надпочечников можно продлить, вводя им большие количества хлорида натрия. Однако адреналэктомированные животные, получающие только соль или соль-задерживающий гормон (такой, как дезоксикортикостерон), все же находятся в постоянной опасности, поскольку лишены гормонов, преимущественно влияющих на обмен органических веществ.

Нарушения метаболизма органических соединений при недостаточности надпочечников крайне сложны, и в настоящее время их невозможно сколько-нибудь точно и надежно сгруппировать. Одни метаболические последствия адреналэктомии обусловлены отсутствием глюкокортикоидных гормонов, другие — влиянием гемодинамических изменений, связанных с потерей соли, а третьи — недоеданием и пониженной скоростью общего обмена веществ.

У адреналэктомированных животных голодание приводит к быстрому падению уровня глюкозы в крови и гликогена в тканях. У людей, страдающих аддисоновой болезнью, после введения глюкозы (проба на глюкозотолерантность) часто наблюдается типичная реактивная гипогликемия, т. е. падение содержания глюкозы в крови ниже исходного уровня. Видимо, в норме стероиды надпочечников противодействуют такому падению (см. гл. 14). Действительно, характерной особенностью недостаточности надпочечников является повышенная чувствительность к инсулину. Адреналэктомия смягчает панкреатический диабет отчасти именно потому, что отсутствие гормонов надпочечников компенсирует дефицит инсулина. Результаты многих экспериментов показывают, что адреналэктомированные животные при голодании не способны компенсировать недостаток поступления углеводов в организм путем синтеза глюкозы de novo за счет белков мышц и лимфоидной ткани. Судя по многочисленным данным, у лишенных надпочечников животных нарушена мобилизация белков периферических тканей (в основном мышечной и лимфоидной) для глюконеогенеза; однако имеются указания и на то, что в гепатоцитах таких животных заторможено и превращение аминокислот в гликоген.

Помимо описанных эффектов, глюкокортикоиды надпочечников нередко, по-видимому, играют «пермиссивную» роль в метаболизме. Это означает просто, что многие чувствительные клетки способны полноценно отвечать на те или иные гуморальные и нервные сигналы только в присутствии некой базальной концентрации стероидов коры надпочечников. Адреналэктомированные животные, например, не реагируют на травму или кровотечение повышением экскреции азота, как это наблюдается у контрольных животных. Относительно малые дозы кортизоноподобных соединений «разрешают» проявление данной реакции.

Глюкокортикоиды принимают участие как в синтезе катехоламинов, так и в проявлении их действия. В клетках мозгового слоя надпочечников глюкокортикоиды индуцируют синтез метилтрансферазы, которая катализирует образование адреналина из его предшественника — норадреналина (см. рис. 13-2). Глюкокортикоиды оказывают пермиссивное действие на калоригенный, липолитический, прессорный и бронхорасширяющий эффекты катехоламинов. Иными словами, в отсутствие глюкокортикоидов (как это имеет место у адреналэктомированных животных) перечисленные эффекты катехоламинов либо вообще не проявляются, либо выражены гораздо слабее, чем в норме. В некоторых тканях глюкокортикоиды увеличивают число β-адренергических рецепторов и их сродство к гормону. Механизм подобного действия стероидов изучен недостаточно.

В настоящее время считают, что действие глюкокортикоидов на глюконеогенез в печени, как и их влияние на белковый обмен в периферических тканях, в основном имеет пермиссивный характер. Показано, что изолированная перфузируемая печень адреналэктомированных крыс не отвечает на глюконеогенные стимулы, такие, как глюкагон, адреналин или 3′,5′-цАМФ (Exton, Park, 1967). Предварительное введение этим животным глюкокортикоидов восстанавливало тканевую реакцию на добавление указанных веществ в перфузат. Частичное восстановление ответа можно получить даже при перфузии in vitro печени адреналэктомированных крыс глюкокортикоидами (дексаметазоном). Недостаточность надпочечников не ведет к снижению продукции 3′,5′-цАМФ в ответ на стимуляцию. По-видимому, в таких условиях ответ нарушается на уровне самого процесса глюконеогенеза, не воспринимающего повышенный уровень цАМФ в качестве сигнала.

У человека одним из наиболее ярких симптомов недостаточности надпочечников является усиление пигментации кожи. Ниже мы увидим, какую роль в механизме гиперпигментации играет повышенная секреция гипофизарного кортикотропина, характерная для данного состояния.

Уже упоминались поведенческие и эмоциональные нарушения при аддисоновой болезни, а также тот факт, что они могут сопровождаться изменением электроэнцефалограммы. Введение глюкокортикоидов нормализует эти сдвиги.

Схема гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы

Пучковая зона клеток коры надпочечников находится под трофическим контролем гипофизарного кортикотропина (АКТГ), который стимулирует продукцию этими клетками стероидов (таких, как кортизол), преимущественно регулирующих метаболизм органических соединений. Клетки, продуцирующие альдостерон, расположены в клубочковой зоне, и их активность контролируется независимо другими тропными веществами, максимальный эффект которых может проявляться только при наличии пермиссивных концентраций АКТГ (см. гл. 12). Считается, что андрогены надпочечников вырабатываются преимущественно клетками сетчатой зоны коры надпочечника, прилегающей к мозговому слою. Клетки клубочковой зоны в определенной мере независимы от АКТГ; это видно из того, что, во-первых, воздействие АКТГ на надпочечники не приводит к обеднению этой зоны липидами (в отличие от пучковой зоны), а, во-вторых, ширина клубочковой зоны колеблется в зависимости от обеспеченности организма солью даже у гипофизэктомированных животных. Таким образом, существуют по меньшей мере две системы обратной связи, регулирующие активность коры надпочечников: в одной из них участвуют в основном АКТГ и кортизол, а в другой — альдостерон и его собственные тропные вещества. В первом случае уровень секреции кортизола в венозную кровь надпочечников почти полностью определяется интенсивностью стимуляции со стороны АКТГ. Вырабатывающийся кортизол действует затем на ткань, продуцирующую АКТГ, передавая ей «инструкцию» к снижению секреции тропного гормона. Скорость продукции АКТГ, при которой воспринимается и реализуется тормозящий сигнал, по-видимому, может устанавливаться то на более высоком, то на более низком уровне, но механизм такой «перенастройки» обратной связи не известен. Регуляция секреции альдостерона рассматривается в гл. 12.

Андрогены надпочечников и регуляция их продукции обсуждались в гл. 9. Они играют важную роль в стероидном гомеостазе беременных женщин и фетоплацентарной единицы. Кроме того, они служат предшественниками эстрогенов у особей обоего пола.

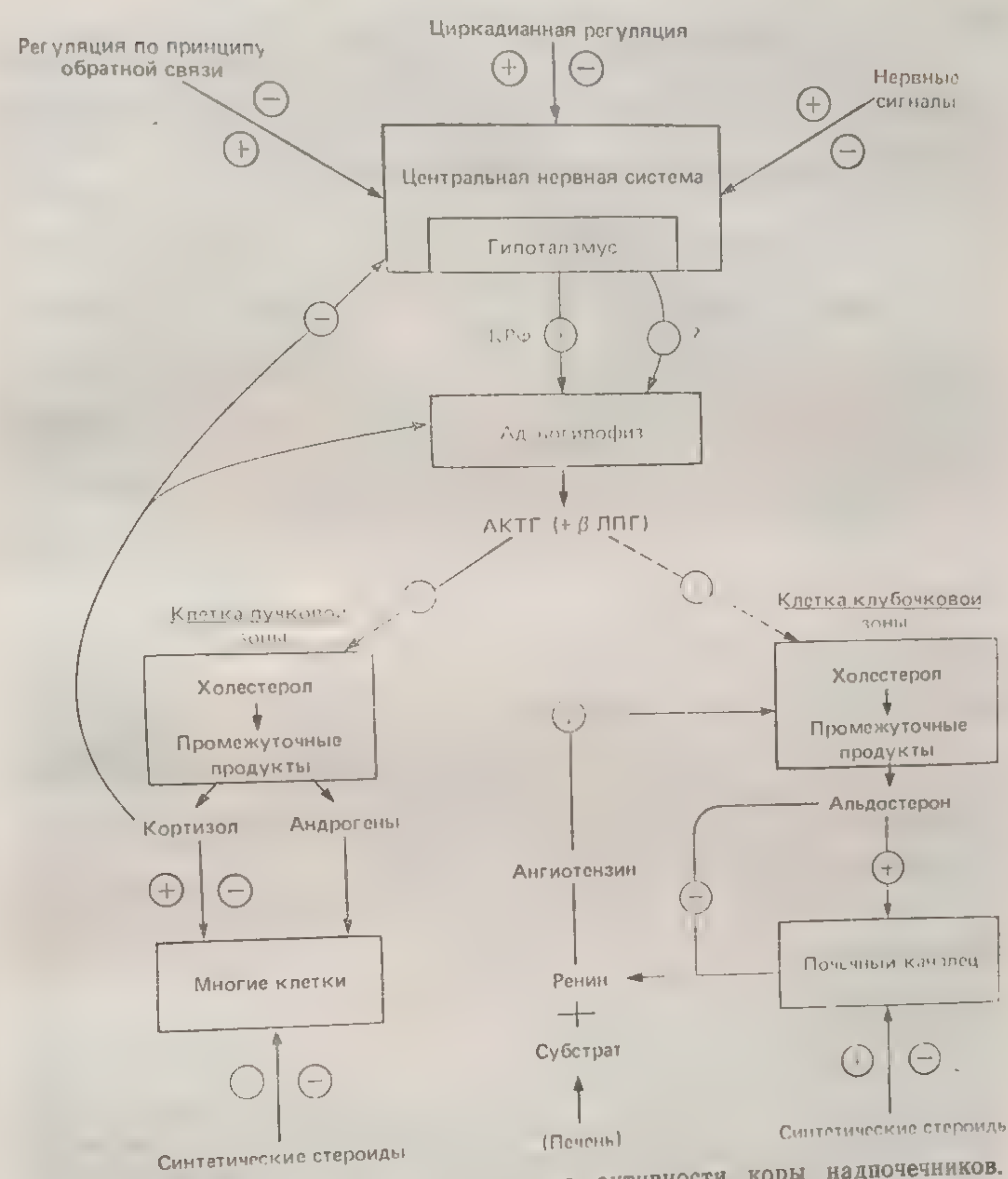


Рис. 11-2. Нейроэндокринная регуляция активности коры надпочечников.

На рис. 11-2 представлена общая схема системы нейрогенные факторы — гипофиз — кора надпочечников — органы-мишени. Ниже мы остановимся на ней подробнее.

Клетки коры надпочечников: биосинтез гормонов

Колебания активности клеток коры надпочечников обусловлены разной интенсивностью химических стимулов, поступающих к ним через кровоток. Среди таких стимулов наиболее изу-

чен АКТГ. В отсутствие АКТГ кора надпочечников истончается, вся железа уменьшается в размерах, а продукция глюкокортикоидов падает практически до нуля. Продукция альдостерона тоже несколько снижается, но остается достаточной для того, чтобы предотвратить потерю соли.

В отличие от островков Лангерганса, гипофиза и щитовидной железы клетки коры надпочечников не запасают значительных количеств гормонов. Надпочечники отличаются богатым кровоснабжением, и их клетки, по-видимому, секретируют гормон в кровь сразу же после его выработки. Чтобы экстрагировать из надпочечников несколько миллиграммов кортизола или альдостерона, необходимо обработать очень много материала. Из ткани надпочечников были выделены и затем идентифицированы многочисленные стероиды (25—30), но большинство из них, по-видимому, служат промежуточными продуктами синтеза небольшого числа гормонов. Совершенствование аналитических методов позволило в настоящее время обнаружить и количественно охарактеризовать стероиды, появляющиеся в венозной крови надпочечников при стимуляции АКТГ. Главным глюкокортикоидом у человека и собаки является кортизол (гидрокортизон, соединение F Кендалла); у крыс — кортикостерон.

Применив разнообразные методы (например, гистохимические, химико-аналитические, радиоизотопные, бумажную хроматографию, перфузию надпочечников) и изучив продукты, экскретируемые с мочой, удалось построить вероятную схему биосинтеза гормонов в клетке надпочечника. Хотя такая клетка и не содержит больших запасов конечного продукта, в ней присутствуют значительные количества предшественника стероидных гормонов — эфира холестерола.

На рис. 11-3 приведена последовательность реакций биосинтеза стероидов надпочечников. Эта схема относится не только к клеткам пучковой зоны: аналогичные процессы, несомненно, протекают во всех клетках, продуцирующих стероидные гормоны, будь то кортизол, альдостерон, эстрогены, андрогены или прогестерон. Все анатомические структуры, вырабатывающие соответствующие вещества (надпочечники, яичники, семенники), имеют общее эмбриологическое происхождение; развиваясь из примитивного урогенитального гребешка, они в результате дифференцировки специализируются на продукции одного или нескольких стероидных гормонов. Каким именно стероидом окажется конечный продукт, зависит от набора ферментов в данной гормон-продуцирующей клетке.

Важнейшей особенностью биосинтеза стероидных гормонов является последовательное гидроксилирование (на рис. 11-3 группы ОН). Реакция отщепления боковой цепи (ОБЦ) включает предварительное гидроксилирование 20 и 22 углеродных

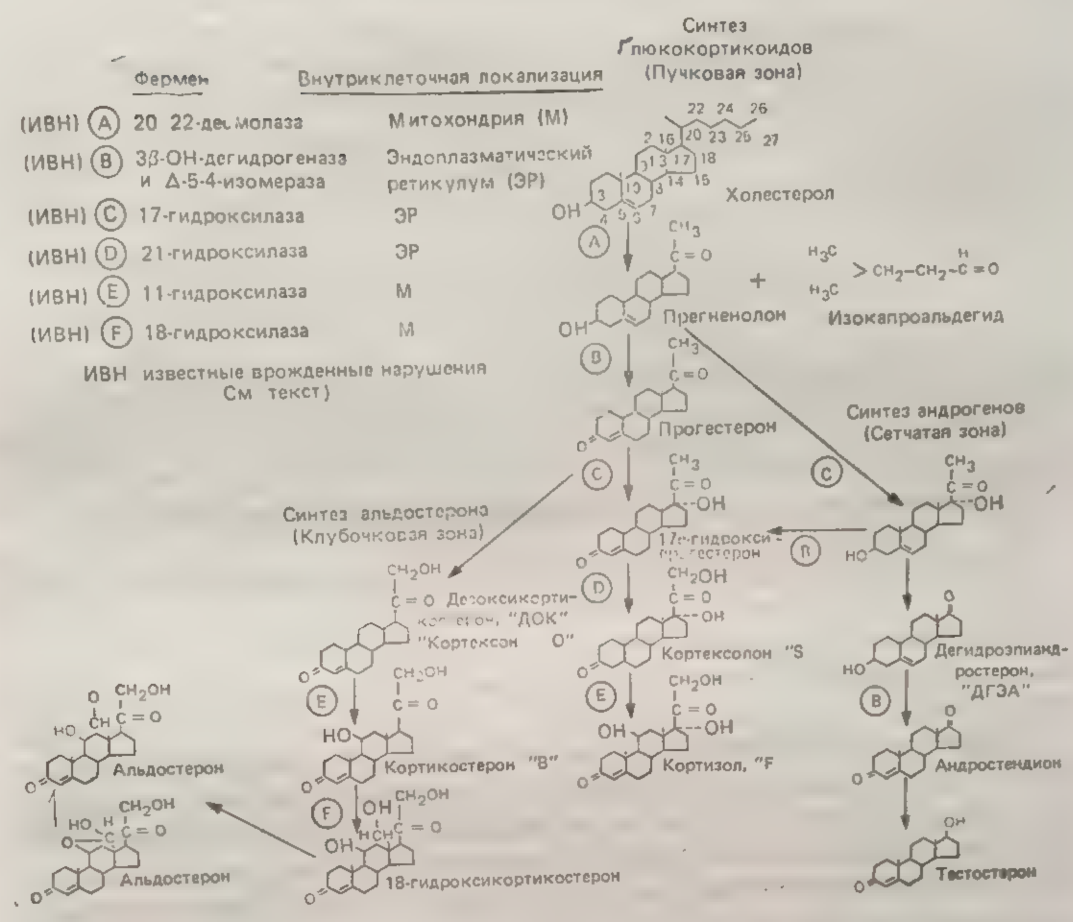


Рис. 11-3. Схема стероидогенеза в коре надпочечников. Из прегненолона в сетчатой зоне образуется 17α-гидроксипрегненолон.

атомов холестерола и последующий распад молекулы на прегненолон и изокапроальдегид. Гидроксилирование стероидного ядра по 17, 21, 11 и 18 атомам углерода приводит к образованию разных продуктов. Все эти реакции имеют общий механизм: для них требуются НАДФ·Н, молекулярный кислород и система донора кислорода, включающая цитохром Р-450. Перечисленные компоненты взаимодействуют, как показано на рис. 11-4. Однако, хотя *цитохром Р-450 во всех реакциях гидроксилирования выполняет одну и ту же функцию, его белковая часть специфична для каждого субстрата.* Так, цитохром Р-450, принимающий участие в отщеплении боковой цепи, обозначается как Р-$450_{ОБЦ}$, тогда как другие обозначаются соответственно как Р-$450_{17\alpha}$, Р-$450_{11\beta}$, Р-450_{C21} и Р-450_{C18}. Поскольку каждый из ферментов представляет собой продукт отдельного гена, специфика продукции стероидов в клетках надпочечников, клетках Лейдига или клетках желтого тела формируется в период их дифференцировки, когда в клетке начинает синтезироваться определенный набор ферментов Р-450 в определенном соотношении.

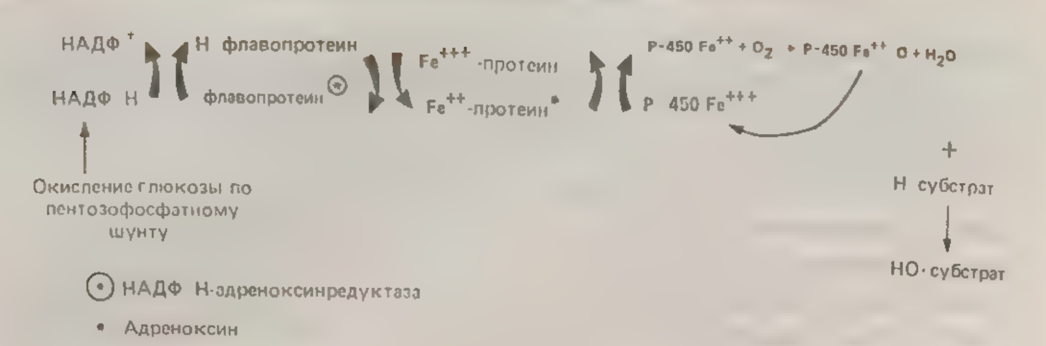


Рис. 11-4. Механизм гидроксилирования стероидов в митохондриях. (В эндоплазматическом ретикулуме электроны непосредственно переносятся с флавопротеина на цитохром Р-450.)

Врожденные дефекты синтеза гормонов надпочечников

Один из практических результатов фундаментальных исследований трансформации стероидов в надпочечниках состоит в идентификации многих врожденных нарушений биосинтеза гормонов. На рис. 11-3 показаны ферментные локусы ряда таких нарушений.

Проявления врожденных дефектов имеют некоторые общие закономерности. При нарушениях ферментативной системы, будь то отсутствие фермента или синтез дефектного ферментного белка, образуется мало конечного продукта и накапливаются предшественники. Например, при гиперплазии надпочечников типа I блокируется реакция гидроксилирования С-21, т. е. превращение 17-ОН-прогестерона в соединение S. В результате содержание продуктов этой и последующих реакций снижается, а метаболиты предшествующих реакций накапливаются. Это приводит к снижению концентрации кортизола в крови, что в свою очередь стимулирует выделение КРФ (кортикотропин-рилизинг фактора) из срединного возвышения. КРФ повышает секрецию АКТГ и его концентрацию в крови, а это в свою очередь активирует стероидогенез на этапах, предшествующих заблокированной реакции. В итоге возрастает синтез андрогенов (см. рис. 11-3), что ведет к вирилизации у женщин или преждевременному половому созреванию у мужчин. О месте блокады можно судить по характеру экскретируемых стероидов (в данном случае выделяется преимущественно прегнандиол), равно как и по отсутствию задержки воды и соли в организме.

При недостаточности 11-гидроксилазы (гиперплазия типа II) соединение S не превращается в кортизол. Опять-таки это приводит к гиперпродукции АКТГ с последующим повышением секреции андрогенов надпочечниками. Однако накопление S проявляется и в виде секреции больших количеств дезоксикортикостерона — стероида, активно задерживающего

соль. Следовательно, отличительным признаком заболевания типа II служит сочетание задержки соли и гипертонии на фоне вирилизации и дефицита кортизола. При этом основным стероидом мочи оказывается тетрагидро-S.

В обоих описанных случаях отсутствует торможение продукции АКТГ по механизму обратной связи из-за недостаточности кортизола. Гиперпродукция АКТГ приводит к накоплению больших количеств тех стероидов, образование которых не лимитировано генетическим дефектом. Компенсируя дефицит кортизола его введением извне, можно подавить секрецию АКТГ и остановить избыточную продукцию андрогенов. В случае недостаточности 11-гидроксилазы такое лечение снимает и гиперпродукцию 11-дезоксикортикостерона (ДОК). Поскольку гипертония у соответствующих больных связана с избыточной секрецией 11-дезоксикортизола и ДОК, лечение снимает и этот симптом.

У плода женского пола с генетическим дефектом метаболизма надпочечников при рождении отмечается вирилизация половых органов, обусловленная действием андрогенов. В то же время структуры, образующиеся из мюллерова протока, сохраняются из-за отсутствия семенников, продуцирующих ФИМ (фактор, ингибирующий мюллеров проток, см. гл. 8). Это состояние поддается коррекции с помощью заместительных (не противовоспалительных) доз глюкокортикоидов, тормозящих продукцию АКТГ.

Разработка радиоиммунологических методов определения отдельных интермедиатов синтеза гормонов надпочечников обусловила возможность *пренатальной диагностики* некоторых врожденных дефектов. Например, повышенный уровень 17-ОН-прогестерона и δ^4-стероидов в амниотической жидкости свидетельствует о недостаточности 21-гидроксилазы у плода, тогда как повышенный уровень тетрагидродезоксикортизола характерен для недостаточности 11-гидроксилазы. Типирование амниотических клеток плода по антигенам системы гистосовместимости (HLA) тоже позволяет прогнозировать недостаточность 21-гидроксилазы, если в семье уже есть больной ребенок с идентичным набором HLA (см. New et al.).

Один и тот же генетический дефект не обязательно в равной мере проявляется в разных типах клеток, продуцирующих стероидные гормоны. Например, четыре врожденных дефекта — недостаточность 21-, 11β-, 17β-гидроксилазы и 3-оксистероиддегидрогеназы — в разной степени проявляются в клетках пучковой (кортизол) и клубочковой (альдостерон) зон. В клетках этих зон (несмотря на их анатомически близкое расположение) гены одних и тех же ферментов, равно как и механизмы их регуляции, к моменту дифференцировки могут иметь различную

организацию. Поэтому с функциональной точки зрения клетки, синтезирующие кортизол и альдостерон, по существу принадлежат двум разным железам. (Современная точка зрения на врожденные нарушения метаболизма в надпочечниках отражена в обзоре New et al.)

Влияние фармакологических средств на стероидогенез

Продукцию стероидных гормонов корой надпочечников ингибируют многие фармакологические средства и токсины. Они могут применяться с лечебной целью при избыточной продукции этих гормонов и в одном случае — для оценки состояния механизмов обратной связи в системе гипофиз — надпочечники.

Митотан

Митотан, или ДДД (рис. 11-5), по структуре напоминает хлоруглеводородные инсектициды семейства ДДТ. При рутинной проверке на токсичность оказалось, что это вещество обладает высокоизбирательным деструктивным влиянием на нормальные клетки коры надпочечников, а позднее тот же эффект был показан на опухолевых клетках этих желез. Хотя механизм действия митотана неизвестен, он применяется в качестве паллиативного химиотерапевтического средства при лечении неоперабельного рака коры надпочечников. Лечебные дозы препарата вызывают у многих больных анорексию, тошноту и сонливость, но его продолжают применять, поскольку возможная польза превышает риск появления неблагоприятных побочных эффектов.

Аминоглутетимид

Аминоглутетимид (α-этил-р-аминофенол-глутаримид) ингибирует первый этап биосинтеза стероидных гормонов, т. е. отщепление боковой цепи холестерола. Это приводит к снижению или полной блокаде всего процесса синтеза стероидных гормонов.

ДДД (o, p'), "МИТОТАН"

МЕТОПИРАПОН, "МЕТИРАПОН"

Рис. 11-5. Ингибиторы стероидогенеза.

Метирапон

Метирапон (рис. 11.5) является довольно избирательным ингибитором 11β-гидроксилазы. Он тормозит синтез стероидов на стадии 11-дезоксикортизола, или кортексолона. Этот метаболит накапливается, но не ингибирует образование АКТГ по механизму обратной связи; поэтому продукция кортикотропина резко возрастает, что стимулирует синтез больших количеств промежуточных стероидных соединений, образующихся выше места фармакологической блокады. В этих условиях проявляется способность ситемы синтеза АКТГ реагировать на внезапное выпадение гормональной функции органа-мишени. Можно оценить эту способность, определяя либо экскрецию 17-оксистероидов с мочой, либо содержание АКТГ в сыворотке крови радиоиммунологическим методом. Тест с метирапоном широко применяется для оценки состояния кортикотропной функции гипоталамо-гипофизарной системы.

Кортикотропин-рилизинг-фактор

См. гл. 5, с. 116.

Кортикотропин (АКТГ)

Структура АКТГ человека показана на рис. 11-6. Хофманом (Hofmann) и его сотрудниками был синтезирован de novo 23-аминокислотный пептид (1—23), обладающий полной активностью природного АКТГ. Затем удалось целиком синтезировать 39-аминокислотный пептид из отдельных аминокислот.

Связи АКТГ, α-МСГ, β-ЛПГ и опиатных пептидов обсуждались в гл. 5. Гипофизарными базофилами определенного типа синтезируется гликопротеиновый предшественник с высокой мол. массой. Среди продуктов расщепления этого гликопротеина обнаруживаются АКТГ и β-ЛПГ. В настоящее время оба

1 10
H_2N-Ser-Tyr-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys
13 18 20
Lys-Pro-Val-Gly-Lys-Lys-Arg-*Arg-Pro-Val*
30
Lys-Val-Tyr-Pro-Asn-Gly-Ala-Glu-Asp-Glu
39
Ser-Ala-Glu-Ala-Phe-Pro-Leu-Glu-Phe-COOH

Рис. 11-6. Аминокислотная последовательность АКТГ человека. Участок 1—13 (жирный шрифт) представляет собой α-МСГ; участок 18—39 (курсив) — кортикотропин-подобный пептид (КПП) промежуточной доли гипофиза. (По данным Lerner, Buettner-Janusch (1961). J. Biol Chem., 236, 2970.)

этих вещества найдены в пучках нейронов мозга, лежащих в отдалении от гипофиза и гипоталамуса. Происхождение этих внегипоталамических пептидов изучено недостаточно; решению вопроса могут способствовать данные Бергланда (Bergland) и Пейджа (Page) о существовании в гипофизарной воротной системе кровотока, направленного от гипофиза в мозг. С другой стороны, АКТГ во внегипоталамических областях мозга обнаруживается даже у гипофизэктомированных крыс, что свидетельствует о его локальном происхождении.

В гипофизе человека содержится примерно 50 ед., или 250 мкг, АКТГ. Скорость его секреции составляет 1—5 ед. (5—25 мкг) в сутки, но в условиях стресса (например, при хирургической травме) может возрастать во много раз.

Разработка радиоиммунологического и радиорецепторного методов определения АКТГ позволила регистрировать его концентрацию в пробах крови, получаемых с помощью постоянного катетера. Как и все другие гипофизарные гормоны, АКТГ секретируется эпизодически (7—9 импульсов за три часа). Эти небольшие всплески секреции накладываются на ее суточные колебания, имеющие бóльшую амплитуду. У здоровых лиц наименьший уровень АКТГ определяется в конце дня и непосредственно перед сном. Наибольший — обычно в 6—8 часов утра, в момент пробуждения. Утренний выброс начинается, как правило, перед пробуждением. Данные о ритме суточных колебаний имеют диагностическое значение, поскольку при состояниях, характеризующихся автономной секрецией АКТГ (болезнь Кушинга, обусловленная развитием АКТГ-продуцирующей опухоли гипофиза, или эктопическая продукция АКТГ другой опухолью), его концентрация обычно повышается во второй половине дня или в начале сна, т. е. происходит нарушение нормального суточного ритма секреции гормона.

Период полураспада АКТГ в крови составляет 15—25 мин. Хотя рецепторы АКТГ на клетках надпочечников обладают очень высоким сродством к этому гормону, только небольшая доля секретируемого за сутки АКТГ (5—25 мкг) фиксируется надпочечниками. В ответ на это малое количество АКТГ клетки надпочечников выбрасывают 20—50 мг кортизола в сутки; отсюда видно, насколько велико усиление тех нервных и гуморальных сигналов, которые вызвали выделение КРФ в гипоталамусе и поступление его в близлежащий гипофиз. В дальнейшем информация в этой системе быстро и надежно суммируется, расшифровывается и поступает к нейронам, синтезирующим КРФ, быстро и надежно благодаря тому, что выделившийся кортизол распространяется по всему системному кровотоку. При одновременном определении АКТГ и кортизола в крови можно убедиться, что концентрация гормона, синтезируемого

Таблица 11.1. Уровни АКТГ в крови[1]

Состояние	Уровень АКТГ в плазме, пг/мл
Гипопитуитаризм	Не определяется
Суточные колебания	
10 часов вечера — 2 часа утра (наименьшая концентрация)	Менее 10
8 часов утра (наибольшая концентрация)	50—80
Первичная недостаточность надпочечников	Более 300
АКТГ-аденома (болезнь Кушинга)	40—200
Эктопическая секреция АКТГ (рак легкого)	200—12 000
Тяжелый стресс	200 — более 1000

[1]) По Daughaday W. H. (1985). In: Williams Textbook of Endocrinology, ed. 7, Philadelphia, W. B. Saunders Co.

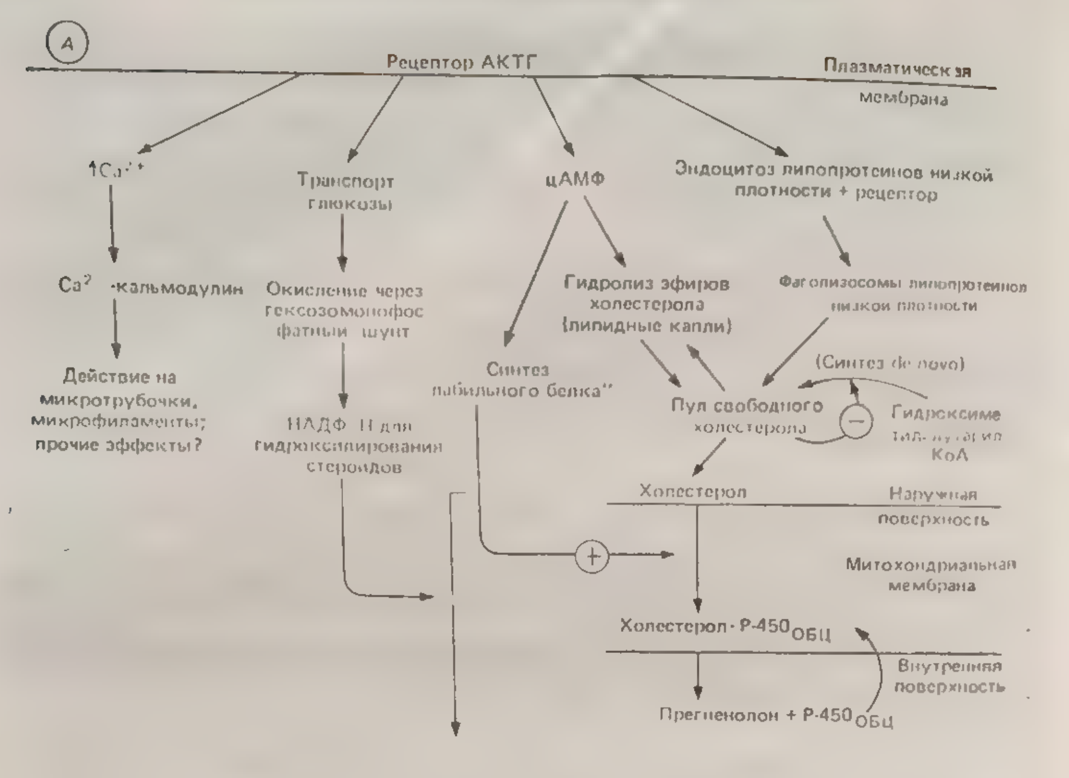
органом-мишенью, колеблется в тесной зависимости от концентрации тропного гормона.

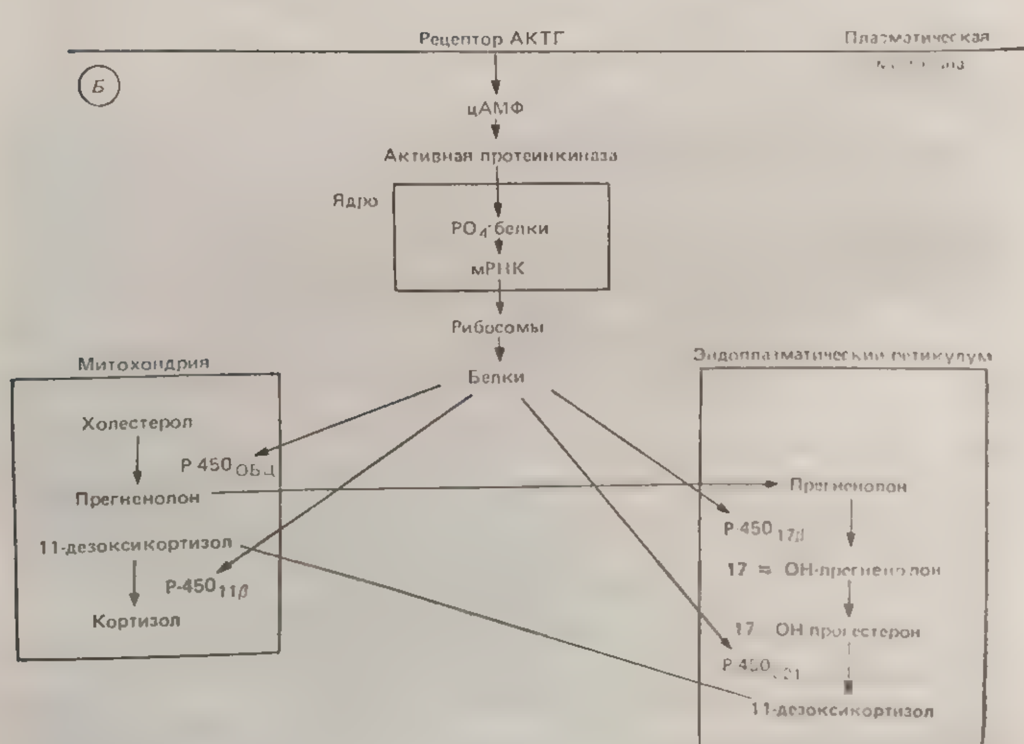
Сопоставление концентраций АКТГ в крови при различных заболеваниях приведено в табл. 11-1.

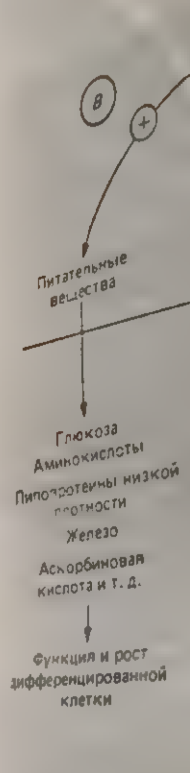
Клеточный механизм действия АКТГ

Рецепторы АКТГ удовлетворяют всем критериям — стереоспецифичности, высокого сродства и насыщаемости, — по которым характеризуют рецепторы плазматической мембраны клетки. Они обнаруживают феномен избыточности: максимальный ответ (синтез) стероидов регистрируется при взаимодействии АКТГ всего с 5% имеющихся рецепторов. При этом усиление стероидогенеза можно зафиксировать еще в тот момент, когда увеличение концентрации цАМФ в ткани надпочечника или препарате диспергированных клеток не поддается измерению. С другой стороны, АКТГ, несомненно, активирует аденилатциклазу, а стероидогенез можно стимулировать с помощью цАМФ в отсутствие АКТГ. Отсутствие корреляции между регистрируемым синтезом гормона и уровнем цАМФ (как это имеет место и в клетках Лейдига, стимулируемых ЛГ) обусловлено связыванием цАМФ с регуляторной субъединицей цАМФ-зависимой протеинкиназы, что и не позволяет определить существенного прироста концентрации цАМФ в ткани.

Для стимулирующего действия АКТГ на стероидогенез в клетках надпочечников необходим *кальций*. Согласно некоторым данным (Cheitlin et al.), главный эффект Ca^{2+} заключается в облегчении связывания АКТГ с рецептором; имеются указания и на участие ионов кальция в механизме действия цАМФ на стероидогенез. (Действительно, кальций может имитировать некоторые эффекты АКТГ и в отсутствие цАМФ).


А
Рецептор АКТГ
Плазматическая мембрана
Транспорт глюкозы
цАМФ
Эндоцитоз липопротеинов низкой плотности + рецептор
Са²⁺-кальмодулин
Окисление через гексозомонофосфатный шунт
Гидролиз эфиров холестерола (липидные капли)
Фаголизосомы липопротеинов низкой плотности
Действие на микротрубочки, микрофиламенты; прочие эффекты?
НАДФ · Н для гидроксилирования стероидов
Синтез лабильного белка"
(Синтез de novo)
Пул свободного холестерола
Гидроксиметилглутарил КоА
Холестерол
Наружная поверхность
Митохондриальная мембрана
Холестерол · Р-450ОБЦ
Внутренняя поверхность
Прегненолон + Р-450ОБЦ


Рецептор АКТГ
Плазматическая
Б
цАМФ
Активная протеинкиназа
Ядро
РО₄-белки
мРНК
Рибосомы
Митохондрия
Эндоплазматический ретикулум
Белки
Холестерол
Р 450ОБЦ
Прегненолон
11-дезоксикортизол
Р-450 11β
Кортизол
Прегненолон
Р 450 17α
17 α ОН-прегненолон
17 ОН прогестерон
11-дезоксикортизол



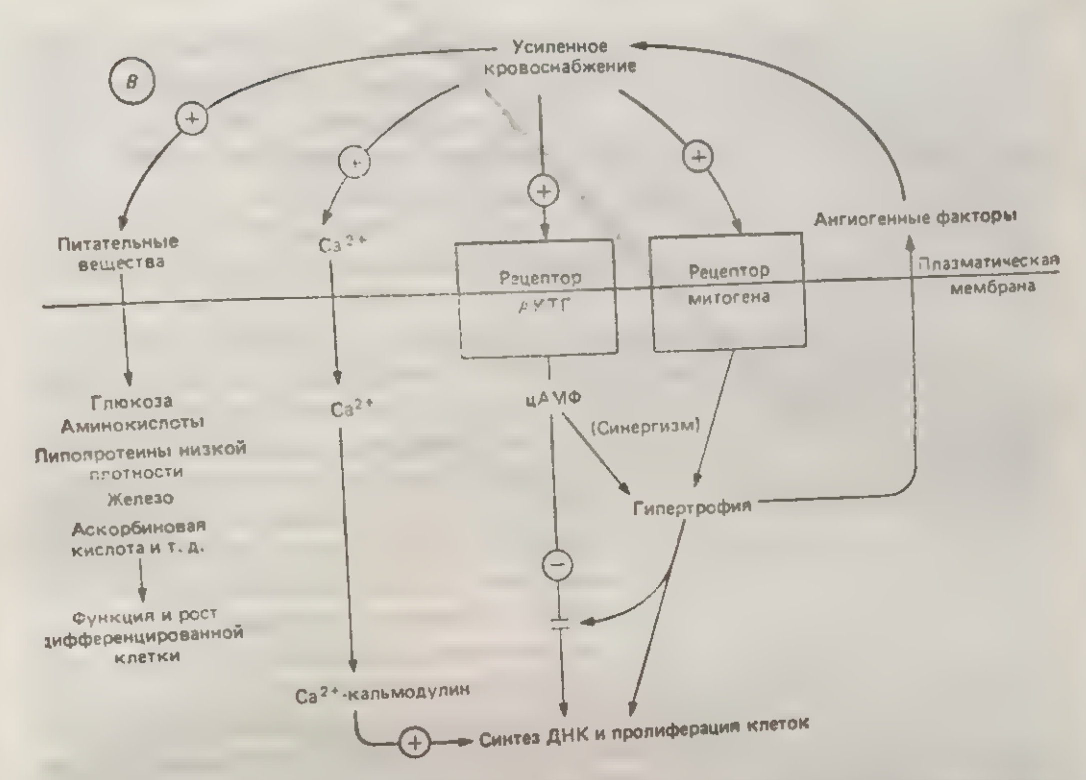


Рис. 11-7. *А*. Острые эффекты АКТГ. *Б*. Индукция ферментных комплексов стероидных гидроксилаз под действием АКТГ. *В*. Взаимодействие АКТГ и митогена при хроническом действии АКТГ, вызывающем гипертрофию и гиперплазию надпочечников. (По Gill G. N. (1976). Pharmacol. Ther., 2, 313, с модификациями.)

Эффекты АКТГ на клетки пучковой зоны коры надпочечников можно подразделить на три основные группы в зависимости от времени, требующегося для проявления ответа на АКТГ: 1) острый эффект, т. е. проявляющийся в первые несколько минут, не опосредуемый синтезом новых мРНК; 2) подострый, который зависит от синтеза мРНК специфических ферментов, участвующих в стероидогенезе (наблюдается спустя несколько часов); 3) хронический эффект — гипертрофия и гиперплазия железы (от часов до суток).

1. Острый эффект АКТГ (рис. 11-7, А)

Открытие роли цАМФ в механизме действия АКТГ (Haynes, Berthat) хронологически оказалось первым (после опытов с гликогенолизом) подтверждением гипотезы Сазерленда о функционировании этого циклического нуклеотида в качестве второго посредника. Действительно, синтез стероидов в клетках надпочечников удалось стимулировать введением аналога цАМФ — дб-цАМФ. Однако ни АКТГ, ни дб-цАМФ не оказыва-

ли такого эффекта, если к клеткам добавляли ингибитор трансляции циклогексимид; на этом основании Гаррен и др. (Garren et al.) заключили, что цАМФ активирует синтез короткоживущего белка («лабильный белок») на уже имеющейся долгоживущей мРНК. Существование лабильного белка было действительно доказано, но до сих пор неясно, стимулирует ли цАМФ-зависимая протеинкиназа его синтез или просто активирует этот белок.

В принципе цАМФ оказывает влияние на трансляцию (судя по стимуляции фосфорилирования рибосомного белка с неизвестной функцией). Из многих предполагаемых функций лабильного белка (среди которых и функция внутриклеточного переносчика свободного холестерола) наиболее вероятной представляется показанная на рис. 11.7, *А*, а именно облегчение связывания свободного холестерола с $P\text{-}450_{\text{обц}}$ на внутренней мембране митохондрий. Цитохром $P\text{-}450_{\text{обц}}$, который часто рассматривают как фактор, лимитирующий скорость всего процесса синтеза кортизола, присутствует в достаточно высокой концентрации, чтобы обеспечить ускорение этого процесса при условии увеличения притока субстрата — холестерола. Поэтому точнее было бы говорить, что лимитирующим скорость фактором является количество предшественника гормона, доступного для $P\text{-}450_{\text{обц}}$. Если к клеткам надпочечника добавить АКТГ, то сразу возрастает количество цитохрома $P\text{-}450_{\text{обц}}$, связанного с холестеролом.

Отсюда следует, что действие АКТГ или цАМФ на стероидогенез начинается с облегчения связывания холестерола с цитохромом $P\text{-}450_{\text{обц}}$. В условиях покоя большая часть митохондриального холестерола находится на *наружной* мембране этих органелл, тогда как $P\text{-}450_{\text{обц}}$ расположен на внутренней мембране. Каким образом происходит транслокация холестерола через мембрану — не ясно, но одно из предположений сводится к тому, что лабильный белок меняет фосфолипидное окружение наружной и внутренней мембран, облегчая контакт холестерола и фермента.

Содержащееся в наружной митохондриальной мембране количество холестерола достаточно для ответной реакции на АКТГ или дб-цАМФ; это видно из того, что добавленный в очищенном виде лабильный белок увеличивает синтез прегненолона в митохондриях, выделенных из нестимулированных клеток. Общий запас (пул) свободного холестерола (источник свободного холестерола митохондриальной мембраны) в интактных клетках образуется несколькими путями. В липидных каплях клеток надпочечников (равно как и клеток Лейдига, желтого тела и других образующих стероиды клеток) запасаются большие количества эфиров холестерола. Фермент гидролаза эфи-

ров холестерола, который высвобождает холестерол из связи с длинноцепочечными жирными кислотами, служит субстратом цАМФ-зависимой протеинкиназы. В фосфорилированном состоянии этот фермент активен и мобилизует холестерол из липидных капель. Показано также, что клетки надпочечников способны синтезировать свободный холестерол de novo из ацетил-КоА через гидроксиметилглутарил-КоА; однако этот путь вносит лишь минимальный вклад в образование свободного холестерола в стимулированных клетках, поскольку ингибируется холестеролом, образующимся при гидролизе эфиров.

В условиях длительного воздействия кортикотропина основным источником холестерола как предшественника стероидных гормонов служат практически неограниченные его запасы в крови, где он находится в составе липопротеинов. Хотя существуют видовые различия в классах липопротеинов, используемых надпочечниками [у человека — липопротеины низкой плотности (ЛПНП), у крысы — липопротеины высокой плотности (ЛПВП)], система построена на одном и том же принципе. Плазматическая мембрана клеток, продуцирующих стероиды, содержит специфические рецепторы ЛПНП или ЛПВП. При воздействии на клетки АКТГ липопротеины, содержащие эфиры холестерола и связанные со своими специфическими мембранными рецепторами, проникают внутрь клетки путем эндоцитоза; при этом эндоцитозные пузырьки, в которых находятся липидная и белковая части липопротеина вместе с рецептором, сливаются с одной или несколькими лизосомами, образуя фаголизосому — микроскопический переваривающий пузырек. Далее катаболические лизосомные ферменты переваривают макромолекулы (поставляя стимулированной клетке дополнительные продукты для метаболизма) и расщепляют эфиры холестерола, пополняя запас свободного холестерола. Не использованный для синтеза стероидных гормонов свободный холестерол может вновь подвергнуться этерификации и затем включиться в имеющиеся липидные капли. Остается неясным, каким образом (прямо или опосредованно) занятый гормоном (АКТГ) рецептор взаимодействует с той частью мембраны, которая содержит рецептор липопротеинов низкой плотности. Однако именно на этом этапе действия АКТГ участвуют как Ca^{2+}, так и структуры цитоскелета — микротрубочки и микрофиламенты.

Как ни различны функции клеток надпочечников и щитовидной железы, существует принципиальное сходство ответов этих клеток на гормональную стимуляцию. Прежде всего АКТГ, как и ТТГ, стимулирует транспорт глюкозы. Усиленный приток глюкозы обеспечивает энергией процессы биосинтеза, движение органелл и т. д., но особенно образование НАДФ·Н (через пентозо-фосфатный шунт), который необхо-

дим для синтеза кортизола из холестерола (на этапе гидроксилирования). Как отмечалось в гл. 10, ТТГ тоже стимулирует продукцию НАДФ·Н, который участвует в метаболических процессах, обеспечивающих функцию тиреоидных клеток. Образующийся через пентозо-фосфатный шунт НАДФ·Н играет специфическую роль в реакциях гидроксилирования, протекающих в эндоплазматическом ретикулуме; в аналогичных реакциях гидроксилирования, протекающих в митохондриях (отщепление боковой цепи и 11β-гидроксилирование), принимает участие НАДФ·Н, образующийся в самих митохондриях в процессе обратного транспорта электронов.

Роль Ca^{2+} в стимулируемом АКТГ стероидогенезе, по-видимому, весьма значительна, хотя не до конца выяснена. Как уже отмечалось, Ca^{2+} влияет на связывание АКТГ с его рецепторами; кроме того, комплекс Ca^{2+}-кальмодулин участвует в функционировании элементов цитоскелета — микротрубочек и микрофиламентов. Считается, что Ca^{2+} необходим и для трансмембранного перемещения холестерола, которое должно предшествовать отщеплению боковой цепи (хотя структуры цитоскелета в этом процессе не участвуют). Увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} под влиянием АКТГ приводит к накоплению этого иона в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме. Как это отражается на метаболизме стероидов в указанных органеллах, остается неизвестным. О том, что Ca^{2+} может действовать на клетки надпочечников подобно цАМФ, свидетельствует тот факт, что с помощью γ-МСГ можно воспроизвести эффект АКТГ или дб-цАМФ на гидролазу эфиров холестерола по механизму, опосредованному не цАМФ, а ионами кальция.

2. Подострый (промежуточный) эффект АКТГ: индукция специфических ферментов (рис. 11.7, Б)

После гипофизэктомии (лишения АКТГ) происходит резкое снижение активности всех участвующих в стероидогенезе ферментных систем, включающих Р-450. При длительном непрерывном введении АКТГ их активность нормализуется и даже увеличивается выше нормы через 12—24 ч. Как было показано с помощью иммунопреципитации, добавление АКТГ к культуре клеток коры надпочечников приводит к резкому возрастанию скорости синтеза цитохромов $Р\text{-}450_{ОБЦ}$ и $Р\text{-}450_{11β}$. Следовательно, повышение ферментативной активности обусловлено появлением новых белковых молекул. Как и в случае фармакологической индукции цитохромов Р-450 в печени, влияние АКТГ на ферменты стероидогенеза определяется ускорением образования новых мРНК для соответствующих белков. Метод дву-

мерной хроматографии в полиакриламидном геле позволил установить, что в первые несколько часов под действием АКТГ в клетках надпочечников индуцируется синтез лишь немногих белков, т. е. имеет место избирательное влияние на транскрипцию генов, как это характерно и для стероидных, и для тиреоидных гормонов.

Синтез как митохондриальных, так и микросомальных (эндоплазматический ретикулум) ферментов стероидогенеза индуцируется не только АКТГ, но и дб-цАМФ и холерным токсином. Это доказывает, что повышение синтеза мРНК, которое необходимо для увеличения уровня цитохромов Р-450, обеспечивается одним или несколькими белками, фосфорилированными цАМФ-зависимой протеинкиназой. Хотя индуцируются все гидроксилазные комплексы, участвующие в продукции кортизола, степень индукции каждого из них не совсем одинакова. К сожалению, механизмы действия цАМФ на транскрипцию в клетках надпочечников изучены меньше, чем механизмы индукции lac-оперона в клетках *E. coli* под влиянием того же цАМФ. Циклический АМФ принимает участие и в индукции ферментов глюконеогенеза в печени (см. гл. 14); вероятно, механизм этого эффекта сходен с таковым в надпочечниках.

3. Гипертрофия и пролиферация клеток (рис. 11-7, В)

При длительном воздействии АКТГ на клетки надпочечников (часы, дни) можно наблюдать не только избирательную индукцию ферментов, но и развитие генерализованной гипертрофии и гиперплазии клеток железы. Эти эффекты обусловлены не одним АКТГ, а совместным его действием с некоторыми митогенными ростовыми факторами. Более того, для того чтобы под влиянием ростовых факторов произошло деление клеток, они вначале должны приобрести резистентность к *анти*репликационным эффектам АКТГ или других агентов, стимулирующих продукцию цАМФ. Дело в том, что длительная стимуляция продукции или введение цАМФ сопровождается ингибированием клеточного деления.

Рис. 11-7, *В* показывает, что реакция гипертрофии-гиперплазии является результатом сложного взаимодействия гормональных, обменных и сосудистых процессов. Циклический АМФ и митогены (среди которых наиболее изучен фактор роста фибробластов) синергично способствуют гипертрофии. На какой-то стадии этого процесса клетка непонятным образом приобретает рефрактерность к ингибиторному действию цАМФ на митогенез. Во всех случаях как нормального, так и патологического роста увеличивается васкуляризация органа, но ответственные за это факторы лучше всего изучены при опухолевом росте. Пролифе-

рация кровеносных сосудов и повышение кровотока обеспечивает клетку бóльшим количеством питательных веществ, Ca^{2+} и гормонов.

Как подчеркнул Джилл (Gill), АКТГ участвует в этом процессе, не только облегчая приток глюкозы, аминокислот и липопротеинов низкой плотности, но и формируя и поддерживая *дифференцированную* стероидогенную функцию клеток надпочечников, т. е. обеспечивая присутствие цитохромов Р-450, нужных для синтеза именно кортизола, а не какого-либо другого стероида. В гл. 9 (см. рис. 9-7) отмечалось, что набор стероидов, образующихся в надпочечниках плода, существенно отличается от такового в полностью дифференцированных надпочечниках новорожденного; у плода основным стероидом является дегидроэпиандростерон·SO_4, тогда как полностью дифференцированный надпочечник вырабатывает в основном кортизол (у человека) или кортикостерон (у крысы). Секретируемый перинатально в больших количествах АКТГ индуцирует полный набор цитохромов Р-450, необходимых для продукции кортизола. Эта продукция сохраняется при гипертрофии и гиперплазии, свидетельствуя о наличии соответствующих ферментов.

Компенсаторная гипертрофия одного надпочечника после удаления второго рассматривалась как яркий пример функционирования системы обратной связи с участием КРФ и АКТГ. Дело, однако, обстоит сложнее, поскольку такая гипертрофия (хотя и выраженная не в полной мере) может иметь место даже у гипофизэктомированных животных или у животных, которым вводили антисыворотку в АКТГ. Существует предположение, что в этой реакции органа участвуют эфферентные нервные пути (см. Engeland, Dallman).

Регуляция секреции

Точно так же, как функциональная активность коры надпочечников зависит от стимулирующего действия АКТГ, кортикотрофы гипофиза контролируются кортикотропин-рилизинг-фактором. На пептидергические нейроны в свою очередь воздействует множество нейромедиаторов. Эти общие представления отражены на схеме, описанной в гл. 5. Однако система КРФ — АКТГ — кортизол имеет ряд отличительных особенностей.

Прежде всего, адреналэктомия у животных (или первичная аддисонова болезнь у человека) сопровождается повышением концентрации АКТГ в крови. Таким образом, снижение концентрации гормонов железы-мишени снимает их тоническое тормозное влияние по механизму отрицательной обратной связи, что вызывает повышенную секрецию КРФ, а следовательно, и АКТГ.

При введении экзогенных глюкокортикоидов в условиях нормально функционирующей системы гипофиз — надпочечники секреция АКТГ эффективно подавляется. Таким образом, в этой системе, как и следовало ожидать, действует отрицательная обратная связь.

Противоположные эффекты КРФ и глюкокортикоидов на синтез и секрецию АКТГ, подтвержденные экспериментами in vivo и in vitro (первичная культура клеток передней доли гипофиза крысы) осуществляются на уровне транскрипции (Gagner, Droin). Установлено, что под действием КРФ не позднее чем через 15 мин *увеличивается* скорость транскрипции гена проопиомеланокортина, а глюкокортикоид дексаметазон спустя примерно 30 мин после добавления *ингибирует* транскрипцию этого гена. Высокоизбирательное действие глюкокортикоидов на транскрипцию иллюстрируется тем фактом, что стероиды стимулируют транскрипцию одних генов (например, гормона роста в гипофизе, $\alpha 2u$-глобулина, тирозинаминотрансферазы, триптофаноксигеназы в печени) и ингибируют транскрипцию двух других (проопиомеланокортина в гипофизе и α-фетопротеина в печени).

Система отрицательной обратной связи может, однако, перекрываться другой регуляторной системой, обладающей бо́льшей мощностью. Когда животное или человек подвергается разнообразным воздействиям, вызывающим состояние, которое обозначают общим термином «стресс» (например, травма, ожог, гипогликемия, физическая нагрузка, инфекция, интоксикация химическими веществами, кровотечение, боль, психологические потрясения), секреция АКТГ в той или иной степени стимулируется, *несмотря на то, что концентрация кортизола в крови в этих условиях гораздо выше, чем требуется для полного торможения продукции АКТГ в отсутствие стресса*. При стрессе либо падает чувствительность центральных нейронов, опосредующих отрицательную обратную связь, либо включается аварийная цепь в обход системы «нормальной» отрицательной обратной связи, доминирующая над этой системой. Помимо указанных механизмов контроля, как уже отмечалось, существует группа механизмов, контролирующих ритмическую или эпизодическую, а также суточную, связанную со сном, секрецию АКТГ.

Что касается центральных нейромедиаторов, то практически невозможно определить, какой из них опосредует эффект каждого из многочисленных стимулов секреции КРФ. Можно лишь привести схему Джонса (рис. 11-8), который предполагает, что серотонин и ацетилхолин (АцХ) участвуют в передаче стимулирующих сигналов для секреции КРФ, а норадреналин (НА) и γ-аминомасляная кислота (ГАМК) могут играть ингибиторную роль.

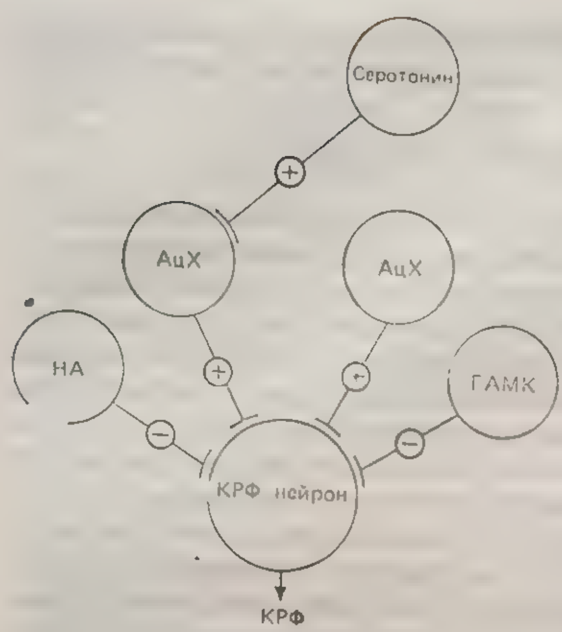


Рис. 11-8. Регуляция секреции КРФ (по Jones). АцХ — ацетилхолин, ГАМК — γ-аминомасляная кислота, НА — норадреналин.

Хотя моноаминергические механизмы регуляции синтеза КРФ выяснены не до конца, тем не менее вещества, препятствующие действию предполагаемых медиаторов в этой системе, уже довольно успешно прошли клинические испытания. Так, показано, что ципрогептадин — антагонист серотонина, обладающий, вероятно, еще и некоторой антихолинергической и антигистаминергической активностью, — во многих случаях эффективно блокирует секрецию АКТГ при болезни Кушинга.

Принципиально важным моментом здесь является то, что все нервные пути, передающие сигналы о боли, эмоциях, кровотечении и гипогликемии и идущие от различных областей головного мозга, замыкаются на КРФ-пептидергические нейроны и потому запускают стереотипную реакцию.

Ингибирующее действие экзогенных глюкокортикоидов на секрецию АКТГ служит основой диагностической процедуры, которая помогает дифференцировать высокую секрецию глюкокортикоидов в норме от болезни Кушинга или эктопической продукции АКТГ. Дело в том, что синтетический стероид дексаметазон (см. ниже) уменьшает продукцию АКТГ и глюкокортикоидов ниже определенного эмпирически установленного уровня. У больных с частичной или полной автономией АКТГ-продуцирующих клеток этого не происходит. (Для диагностики применяют не кортизол, а дексаметазон потому, что он не мешает химическому определению экскретируемых метаболитов природных стероидов.)

Доказано, что стероиды могут ингибировать секрецию АКТГ, непосредственно воздействуя на гипофиз. Как ни трудно интерпретировать эксперименты, в которых показателем действия глюкокортикоидов (по механизму отрицательной обратной свя-

зи) служило количество КРФ в гипоталамусе, но их результаты указывают на то, что частично этот эффект кортизола осуществляется, по-видимому, на гипоталамическом уровне или даже на уровне супрагипоталамических нейронов, контролирующих функцию гипоталамуса. Кроме длинной петли отрицательной обратной связи с участием кортизола не исключено существование в этой системе и короткой петли, по которой АКТГ оказывает ингибиторное влияние на КРФ-секретирующие нейроны.

АКТГ, кортизол и стресс

Одно из доминирующих направлений в изучении физиологии коры надпочечников связано с теорией, согласно которой система гипофиз — надпочечники играет важнейшую роль в «неспецифических системных реакциях организма, возникающих при длительном воздействии стресса». В 1946 г. Селье (Selye) привлек внимание к тому факту, что «разнообразные вредные агенты» вызывают у крыс довольно стереотипную реакцию. В то время основными проявлениями этой реакции считались гипертрофия надпочечников, атрофия лимфоидной ткани организма и лимфопения. Затем было показано, что при травме, тяжелой мышечной нагрузке, инфекции, геморрагическом шоке, воздействии холода, гипоксии, ожогах и даже тяжелых психологических потрясениях в первую очередь снижается содержание холестерола и аскорбиновой кислоты в надпочечниках и одновременно увеличивается секреция 11-оксигенированных кортикостероидов в венозную кровь надпочечников. При этом может наблюдаться и некоторая задержка натрия и повышенная экскреция калия. Как правило, возникает отрицательный азотный баланс, но обычно его удается нормализовать введением углеводов. Указанные изменения не возникают в отсутствие гипофиза, и поэтому гипофизэктомированные или адреналэктомированные животные, равно как и люди, очень плохо переносят перечисленные выше стрессорные воздействия. На рис. 11-9 графически суммированы многие факторы, вызывающие секрецию КРФ. (Сводку современных данных о взаимодействии ряда гормонов, участвующих в реакциях на стресс, см. в обзоре Axelrod, Reisine, 1984).

Учение о реакции тревоги как компоненте общего адаптационного синдрома оказалось чрезвычайно ценным теоретическим построением, стимулировавшим экспериментальные исследования и плодотворные дискуссии. Крайне интересно, что система гипофиз — надпочечники активируется при самых разнообразных сигналах о потенциальной опасности; вполне возможно, хотя и не доказано, что повышенные количества кортизола, секретируемые сразу же после того или иного повреждения

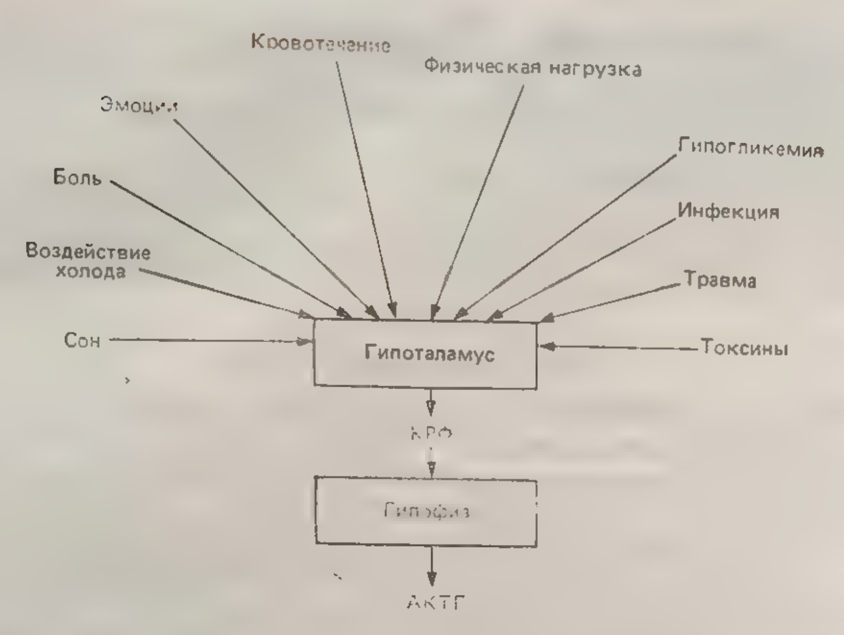


Рис. 11-9. Факторы, вызывающие секрецию КРФ.

(или даже в ожидании его), способствуют жизненно важному процессу перераспределения аминокислот, необходимому для процесса восстановления. О месте приложения действия кортизола в неспецифической реакции на повреждение, равно как и об эволюционном значении этой генерализованной реакции, может говорить следующая цитата из Катбертсона (Cuthbertson):

«...пишущий эти строки, уже давно высказывал мысль о том, что с позиции целесообразности распад лабильного белка, наблюдаемый при травмах, обеспечивает процессы репарации энергией, аминокислотами или тем и другим вместе, и это представляет собой древнюю реакцию, направленную на независимость от питания, поскольку раненое животное по необходимости ограничено в добыче пищи».

[Роль гормонов в поступлении аминокислот из скелетных мышц в кровь рассматривается в работе Лунда и Уильямсона (Lund, Williamson, 1985].

Стереотипную реакцию на стресс можно представить себе как увеличенный эквивалент стереотипной реакции ткани на фактор, вызывающий воспаление. Как будет описано ниже, воспалительная реакция проходит три фазы: 1) острую, 2) фазу протеолиза и 3) фазу репарации повреждения и восстановления структуры. На уровне целостного организма, будь то животное или человек, можно различить аналогичные фазы ответной реакции на стресс или травму. *Острая* фаза опосредуется ЦНС через гипоталамус. Происходящие при этом процессы имеют

самое непосредственное отношение к поддержанию кровоснабжения жизненно важных органов, особенно сердца, легких и мозга. Другие ткани, например скелетные мышцы (50% общей массы тела), почки, желудочно-кишечный тракт и половой аппарат, не имеют такого приоритета. Основные усилия организма направлены, по-видимому, на сохранение объема жидкости и артериального давления, и в решении этой задачи система КРФ — АКТГ — глюкокортикоиды надпочечников взаимодействует с катехоламинами, АДГ и системой ренин-ангиотензин-альдостерон.

Протеолитической стадии воспаления можно уподобить *перераспределение субстратов,* необходимых для выработки энергии и анаболических процессов. В ходе этой стадии глюкокортикоиды действуют совместно с гормонами поджелудочной железы (повышается секреция глюкагона при снижении секреции инсулина) и аминами вегетативной нервной системы и мозгового слоя надпочечников. При этом адреналин ингибирует секрецию инсулина и стимулирует секрецию глюкагона; глюкокортикоиды также повышают секрецию глюкагона.

Во время *восстановительной* стадии весь комплекс гормонов, а также субстраты энергетического обмена и предшественники белка (аминокислоты и другие компоненты) обеспечивают усиленный синтез белков и деление клеток. В первую очередь этому способствуют инсулин, гормон роста и тиреоидные гормоны. Можно предположить, что важную роль играют и ростовые факторы, которые рассматривались в гл. 5 в связи с соматомединами. На рис. 11-10 эта концепция генерализованной реакции на травму представлена в виде схемы. АДГ обсуждался в гл. 6; система ренин-ангиотензин-альдостерон будет рассмотрена в гл 12, катехоламины — в гл. 13, а гормоны поджелудочной железы — в гл. 14.

Теория Селье, согласно которой гиперактивность надпочечников при стрессе приводит к «болезням адаптации» (например ревматоидному артриту), была поставлена под сомнение Хенчем и Кендаллом (Hench, Kendall), открывшими антивоспалительные эффекты фармакологических доз кортизона у больных этим заболеванием[1]. Последующие данные о том, что глюкокортикоиды *ингибируют* синтез и (или) действие многих медиаторов воспаления (включая метаболиты арахидоновой кислоты), кининов, различных медиаторов иммунных реакций и т. д., оказалось трудно согласовать с представлением о том, что большие коли-

[1] Частое противопоставление теории Селье данным Хенча и Кендалла связано, по-видимому, с недоразумением. «Болезни адаптации», по Селье, могут обусловливаться не только (и не столько) гиперпродукцией глюкокортикоидов, сколько неадекватностью секреции различных адаптивных гормонов. — *Прим. перев.*

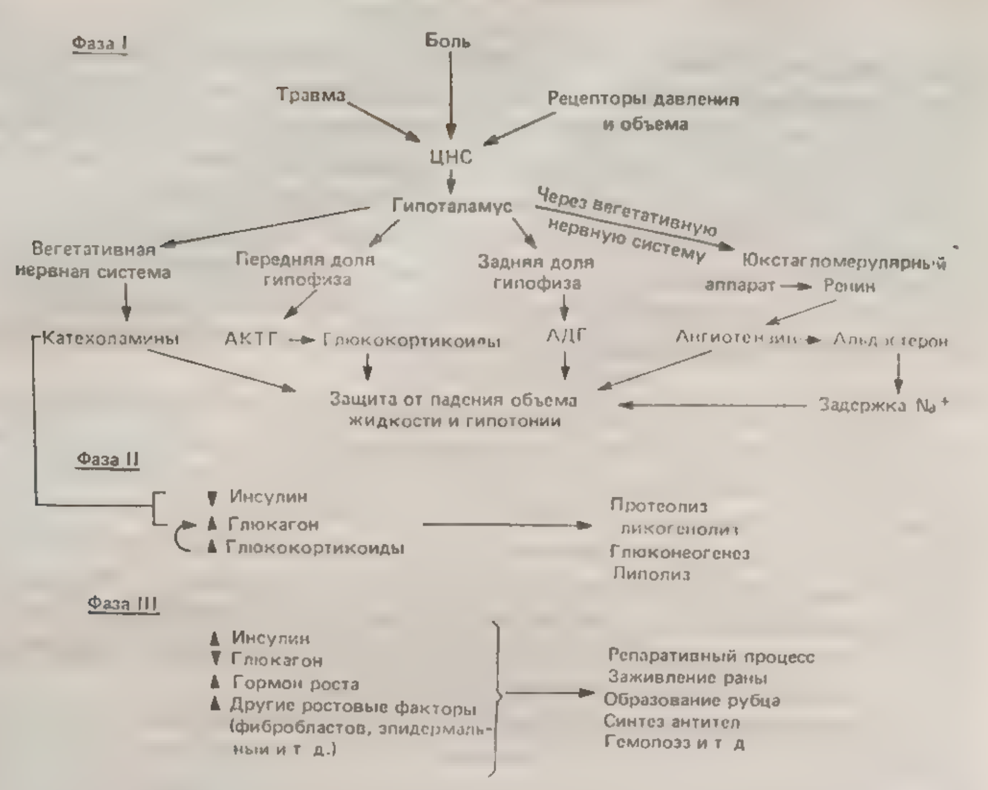


Рис. 11.10. Схема генерализованной реакции на травму.

чества гормонов надпочечников необходимы для противодействия стрессу. Как полагает Мунк (Munck, 1984), модернизировавший гипотезу, «фармакологические» количества глюкокортикоидов требуются не столько для преодоления начальных эффектов стресса, сколько для предотвращения избыточности реакций на стресс и тем самым предохранения организма от дополнительных повреждений. Эта интересная мысль позволяет по крайней мере объяснить парадокс физиологического гиперкортицизма при стрессе, но при этом нужно — с большой натяжкой — допустить, что «ограничивающий» эффект глюкокортикоидов не проявляется на этапе начальной мобилизации защитных сил. Значение гормонов надпочечников для перераспределения метаболитов при стрессе не ставится под сомнение

«Эктопическая» продукция АКТГ

Широкое применение радиоиммунологических методов определения пептидных гормонов позволило установить, что опухолевые клетки могут синтезировать и секретировать множество различных гормонов — пептидов и аминов (известно 15 гормонов, синтезируемых более чем 20 типами опухолей). Один из таких случаев мы уже упоминали при обсуждении синдрома

неадекватной секреции АДГ. Наиболее подробно изучена гиперпродукция АКТГ опухолевыми клетками, сопровождающаяся гиперактивностью клеток коры надпочечников.

Механизмы перестройки биохимических процессов, приводящей к синтезу и секреции АКТГ при овсяноклеточном раке легких или аденокарциноме толстой кишки, неясны. Считают, что какая-то неизвестная сторона неопластического процесса «открывает» специфические участки ДНК для транскрипции. По всей вероятности, это происходит в клетках, исходно обладающих некоторой способностью синтезировать амины, т. е. имеющих нейроэктодермальное происхождение, которые Пирс (Pearse) причислил к APUD-системе (от amine precursor uptake and decarboxylation).

Неадекватная продукция АКТГ опухолью поддается диагностике и терапии. Поскольку секретируемый в избыточных количествах опухолевый АКТГ обычно ни иммунологически, ни биологически неотличим от гипофизарного гормона, его уровень легко определить с помощью радиоиммунологического метода. Такие определения способствуют установлению первичного диагноза, и, более того, исследуя венозную кровь, оттекающую от предполагаемой области локализации опухоли, можно установить источник АКТГ. При хирургическом вмешательстве или химиотерапии последовательные определения АКТГ помогают оценить эффективность лечения и возможность рецидива.

Влияние пептидов семейства АКТГ на поведение

В 1964 г. Де Вид (De Wied) сообщил, что у гипофизэктомированных крыс нарушается выработка условнорефлекторной реакции избегания, причем этот дефект исчезает при введении АКТГ. Затем он показал, что подобным действием обладает и α-МСГ, т. е. фрагмент АКТГ, *лишенный адренотропной активности*. Более того, ни адреналэктомия, ни введение глюкокортикоидов не влияли на способность животных приобретать условный рефлекс.

В дальнейшем было выполнено множество работ по поведенческим эффектам АКТГ и родственных пептидов. Оказалось, что они замедляют угасание различных условных рефлексов и облегчают их выработку. Некоторые исследователи пытались разделить эффекты пептидов на «мотивационные» и связанные с механизмами «обучения и памяти». Пептидный фрагмент $АКТГ^{4-10}$ (равно как и фрагмент α-$МСГ^{4-10}$) проявляет в этих тестах наибольшую среди природных соединений активность, но некоторые синтетические пептиды, отличающиеся от природных отдельными аминокислотами, обладают во много раз большей активностью, чем $АКТГ^{4-10}$. Аминокислот-

ная последовательность АКТГ$^{4-10}$ встречается не только в АКТГ и α-МСГ, но и в β-МСГ и β-ЛПГ.

Каким путем эти пептиды при инъекции попадают в мозг, остается неизвестным. Маловероятно, чтобы парентерально введенные пептиды проходили через гематоэнцефалический барьер. Может быть, решению этого вопроса помогут данные Бергланда и Пейджа (Bergland, Page). Эти исследователи подвергли сомнению общепринятое представление о том, что кровоток между срединным возвышением и гипофизом направлен только в одну сторону — к гипофизу. Они привели доказательства существования кругового кровотока в воротной системе гипофиза, обеспечивающего попадание веществ гипофизарного происхождения в мозг и спинномозговую жидкость, равно как и перенос регуляторных факторов гипоталамуса в гипофиз. Если это действительно так, то возможна связь между гипофизом и теми областями мозга, которые реализуют поведенческие эффекты, описанные Де Видом. Это, кстати, явилось бы дополнительным аргументом в пользу существования сверхкороткой петли обратной связи в регуляции пептидергических нейронов.

Разработка радиоиммунологического метода определения КРФ позволила обнаружить это соединение (или очень сходное с ним) во многих областях мозга вне гипоталамуса. Более того, внутрижелудочковое введение КРФ вызывает повышение уровня катехоламинов, особенно норадреналина, в плазме крови и сердечно-сосудистые реакции, свидетельствующие о стимуляции вегетативной нервной системы. Судя по ЭЭГ и поведенческим реакциям, КРФ вызывает генерализованное возбуждение. На основании этих и других наблюдений складывается впечатление, что КРФ генерализует стрессорный эффект неблагоприятных воздействий. Отсюда Вейл и др. (Vale et al., 1983) предположили, что КРФ воздействует не только на гипоталамус, но и на всю ЦНС, играя интегрирующую роль в формировании ответа на стресс, который включает не только вегетативные, но и поведенческие реакции.

Кортизол

Транспорт кортизола в крови

Глюкокортикоиды крови транспортируются с помощью кортикостероид-связывающего глобулина (транскортина). Нековалентное связывание этого белка с кортизолом характеризуется высоким сродством и малой емкостью. Кортизол образует слабые связи и с альбумином. На концентрацию транскортина в

крови влияют половые гормоны. Кастрация самцов приводит к резкому увеличению концентрации этого белка-переносчика, а заместительное введение андрогенов снижает ее до прежнего уровня. С другой стороны, введение эстрогенов повышает содержание транскортина; при этом каких-либо симптомов гиперкортицизма не появляется, поскольку концентрация свободного гормона не меняется, хотя общий его уровень в крови возрастает. Количество белка, транспортирующего глюкокортикоиды, повышается у беременных женщин и женщин, принимающих контрацептивные препараты, содержащие эстрогены.

Метаболизм и экскреция

Метаболизм кортизола в основном происходит в печени (рис. 11-11). Кортизол последовательно восстанавливается вначале до дигидрокортизола, а затем до тетрагидрокортизола. Поскольку небольшое количество кортизола превращается в кортизон, параллельно происходит и восстановление кортизона. Тетрагидро-производные конъюгируют (по положению 3) с глюкуронидом и легко экскретируются с мочой. Первый восстановленный продукт — дигидрокортизол — уже не обладает глюкокортикоидной активностью, как и все другие продукты метаболизма кортизола. (Для активации кортизона необходимо его восстановление в кортизол.)

Небольшое количество кортизола при отщеплении боковой цепи превращается в 17-кетостероиды (17-КС), пополняя тем самым пул 17-КС, образующийся в основном из андрогенов

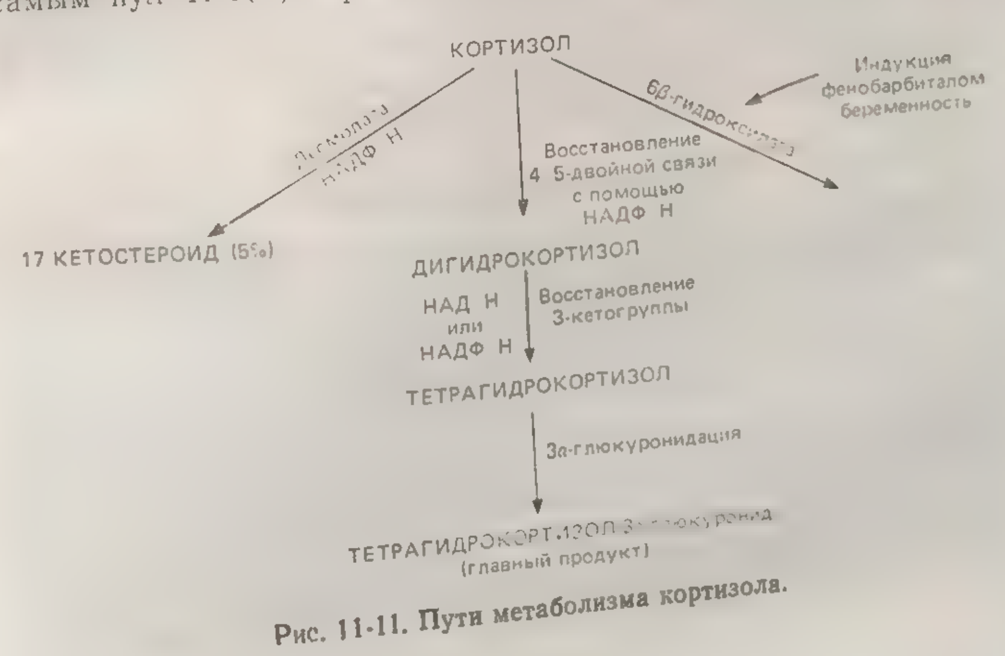


Рис. 11-11. Пути метаболизма кортизола.

надпочечников и (или) семенников. В свое время стероиды мочи иногда определяли путем превращения C_{21}-стероидов в 17-кетостероиды. Если провести соответствующую цветную реакцию до и после такого превращения, можно получить адекватное представление о количестве глюкокортикоидов надпочечников. Отсюда и возник термин *17-кетогенные стероиды,* используемый при оценке секреции глюкокортикоидов. Измерение *17-оксистероидов* (реакция Портера—Зильбера) основано на прямом определении боковой цепи $CHOH—CO—CH_2OH$, присутствующей как в кортизоле, так и в кортизоне. Термин *17-кетостероиды* относится к тем стероидам мочи, которые дают положительную реакцию с метадинитробензолом до того, как боковую цепь кортизола подвергают окислению.

Определяя продукты экскреции кортизола химическим путем, можно установить скорость его суточной секреции. Другой метод состоит в том, что вводят следовые количества радиоактивного кортизола (считается, что метка равномерно распределяется в общем пуле гормона в организме), выделяют продукты экскреции из суточной мочи и определяют их удельную активность; таким образом судят о степени разведения изотопа эндогенно продуцируемым «холодным» кортизолом, а соответственно и о количестве кортизола, секретированного надпочечниками за период сбора мочи.

Небольшая часть кортизола превращается и инактивируется по пути 6-гидроксилирования. Количественное значение этого пути может возрастать при индукции фермента 6β-гидроксилазы лекарственными веществами (фенобарбитал) или эстрогенами, например при беременности. 6-гидроксилирование происходит в печени, и в нем участвует цитохромная система Р-450, аналогичная той, которая необходима для биосинтеза стероидных гормонов в надпочечниках и половых железах.

Биологическое действие

Кортизол — основной представитель так называемых глюкокортикоидов, т. е. стероидов надпочечников, действующих преимущественно на метаболизм органических соединений, в противоположность «минералокортикоидам» (стероидным гормонам, вызывающим задержку соли), которые влияют главным образом на концентрацию натрия и поддерживают постоянный объем жидкости в организме. Как уже отмечалось, стероидные гормоны каждой из этих групп воздействуют фактически на обе сферы обмена. Скорость секреции и концентрация в плазме кортизола и альдостерона сильно различаются. Кортизол секретируется со скоростью 20—25 мг/сут, а альдостерон — только 0,125 мг/сут. Концентрация кортизола в течение суток колеб-

лется примерно от 4 до 16 мкг%. Соответствующая величина для альдостерона составляет 0,01 мкг%.

Глюкокортикоиды прямо или опосредованно регулируют практически все физиологические и биохимические процессы. Кортизол способен изменять реактивность клеток по отношению к другим гормонам или нейромедиаторам. Необходимо различать эффекты *физиологических* или *заместительных* доз кортизола и его *фармакологических (антивоспалительных)* доз. Физиологические дозы достаточны для восстановления всех функций, нарушенных при недостаточности надпочечников; у человека (в отсутствие стресса) они ненамного превышают величину суточной секреции кортизола — 25—37,5 мг/сут. При использовании более активных стероидов нужно вводить соответствующий коэффициент. Фармакологические дозы могут быть эквивалентны 80—200 мг кортизола/сут. При стрессе заместительная доза возрастает до 80—100 мг эквивалентов кортизола. В таких условиях это не фармакологические дозы; они просто отражают тот факт, что при стрессе (например, хирургической травме) возрастает потребность организма в гормоне.

Под влиянием заместительных доз кортизола исчезают все нарушения метаболизма органических соединений, связанные с недостаточностью надпочечников. Если последняя сопровождается лишь небольшой потерей соли, то исчезает и этот симптом, поскольку кортизол обладает альдостероноподобным действием на реабсорбцию натрия в почечных канальцах. При выраженной потере соли вводят еще и минералокортикоиды (обычно фторированный аналог кортизола).

Заместительные дозы глюкокортикоидов восстанавливают следующие *нарушения*, сопряженные с дефицитом кортизола:

1. Гиперчувствительность к инсулину.
2. Снижение запасов гликогена в тканях.
3. Гипогликемию при голодании.
4. Недостаточную мобилизацию белков периферических тканей.
5. Сниженный глюконеогенез.
6. Ослабление реакции жировых клеток на обычные липолитические стимулы.
7. Отсутствие торможения секреции АКТГ и β-ЛПГ по механизму обратной связи.
8. Гипотензию.
9. Задержку роста у быстрорастущих животных.
10. Снижение способности к выведению воды при водной нагрузке.
11. Мышечную слабость и быструю утомляемость.
12. Психологические и эмоциональные сдвиги; нарушения ЭЭГ; подверженность судорожным припадкам.

Эффект избытка глюкокортикоидов

Как отмечалось выше, тиреоидные гормоны и АДГ, в адекватных количествах необходимые для нормальной жизнедеятельности организма, в избыточных концентрациях вызывают болезнь. Точно так же и слишком большие количества кортизола могут быть причиной заболевания. Избыток кортизола может быть обусловлен автономными опухолями надпочечников, АКТГ-продуцирующими опухолями гипофиза (болезнь Кушинга), а также эктопической продукцией АКТГ другими органами (например, легкими). Во всех этих случаях имеется много общих симптомов. Помимо перечисленных спонтанных болезней признаки избытка кортизола в организме часто появляются при проведении антивоспалительного лечения хронических заболеваний, например ревматоидного артрита. Поскольку для подавления воспалительных процессов используют большие дозы глюкокортикоидов, неудивительно, что при этом наблюдаются нежелательные побочные эффекты, которые в совокупности формируют клиническую картину ятрогенной, т. е. вызванной лечением, болезни Кушинга.

Костно-мышечная система

Иногда наблюдается *слабость мышц,* особенно рук и всего плечевого пояса. Это, вероятно, отражает антианаболическое действие глюкокортикоидов на скелетные мышцы — возникает как бы карикатурное подобие того полезного эффекта на мобилизацию аминокислот, который глюкокортикоиды оказывают при голодании. Это серьезное осложнение может потребовать отмены глюкокортикоидной терапии.

Остеопороз, проявляющийся иногда компрессионным переломом позвонков или длинных костей уже при минимальной травме, особенно характерен для женщин в постменопаузальном периоде при получении ими больших количеств кортизола. Патофизиология этого состояния рассматривается в гл. 17.

Желудочно-кишечный тракт

Часто набюдаются *пептические язвы* (особенно желудка). Хотя роль глюкокортикоидов в возникновении пептических язв у человека была подвергнута сомнению, эксперименты на животных подтверждают несомненное ульцерогенное действие стероидов. Известно, что простагландины ингибируют секрецию соляной кислоты в жедуке и в эксперименте препятствуют появлению язв; на этом основании можно допустить, что ингибирующий эффект высоких доз глюкокортикоидов на синтез простагландинов способствует изъязвлению слизистой желудка.

При спонтанной или ятрогенной болезни Кушинга могут развиться *панкреатит* и *перитонит вследствие прободения язвы,* а также другие *инфекционные процессы,* но все — без обычных признаков тяжелого воспаления. Это обусловлено антивоспалительным эффектом глюкокортикоидов, которые подавляют болевые сигналы, лихорадку и лейкоцитоз, т. е. характерные симптомы таких состояний. Аналогично могут развиваться инфекционные процессы других локализаций.

Центральная нервная система

У людей, получающих антивоспалительные дозы стероидов, иногда наблюдаются нарушения психики — от небольших странностей до явных психозов. Эти нарушения возникают, по всей вероятности, лишь у лиц, предрасположенных к психическим заболеваниям. У многих людей стероиды обусловливают хорошее самочувствие, что связано отчасти с ослаблением симптомов болезни, а отчасти — с действием глюкокортикоидов на ЦНС. У некоторых лиц стероидная терапия приводит к избыточному потреблению пищи.

Глаз

Стероидная терапия может смягчать симптомы *глаукомы.* Изредка при такой терапии развиваются задние субкапсулярные катаракты.

Сердечно-сосудистая система и почки

Могут наблюдаться гиперволемия и *гипертония,* хотя опасность задержки натрия и воды сводится к минимуму при использовании синтетических стероидов, обладающих лишь слабым альдостероноподобным эффектом, но высокой антивоспалительной активностью.

Изредка встречается *гипокалиемический алкалоз;* однако он практически не отмечен у лиц, получающих 16α-замещенные синтетические глюкокортикоиды. Это осложнение обусловлено усиленной экскрецией калия, связанной в свою очередь с задержкой натрия под действием стероидов.

Поджелудочная железа

Большие дозы глюкокортикоидов могут вызвать состояние, *сходное с сахарным диабетом,* но в основном у лиц с определенной предрасположенностью. Стероиды ингибируют использование глюкозы и усиливают распад белков в периферических тка-

нях; резко стимулируют глюконеогенез в печени; вызывают гиперглюкагонемию и вторичный гиперинсулинизм; индуцируют повышение уровня липидов в крови и способствуют отложению жира на туловище. Многие из этих эффектов при голодании можно было бы считать адаптивными реакциями, но в условиях достаточного потребления пищи они явно неадекватны.

Эндокринные нарушения

Как показано на адреналэктомированных животных, введение заместительных доз кортизола способствует росту, однако фармакологические дозы тормозят рост, что иногда наблюдается при лечении детей с тяжелой астмой. Этот эффект обусловлен катаболизмом белков под действием фармакологических доз стероидов.

При некоторых спонтанных формах гиперпродукции кортизола возникает *вторичная аменорея.* Эндогенная гиперпродукция глюкокортикоидов сопровождается повышенной секрецией надпочечниками андрогенов, которые в других тканях (но не яичниках) могут служить предшественниками эстрогенов (см. гл. 9). Повышение продукции эстрогенов тормозит секрецию гонадотропинов и нарушает менструальный цикл. В той степени, в которой избыточные андрогены надпочечников превращаются в тестостерон, может наблюдаться *вирилизация* (гирсутизм, акне).

Одним из наиболее серьезных последствий хронической стероидной терапии является *недостаточность надпочечников при отмене гормонов.* Длительное подавление системы гипоталамус—гипофиз—надпочечники экзогенными стероидами приводит к ее атрофии. Если лечение резко прервать, больной становится жертвой ятрогенной аддисоновой болезни. У него появляются все признаки недостаточности надпочечников, но особенно снижается способность противостоять травматическому или иному стрессу. Постепенное восстановление активности системы гипоталамус—гипофиз—надпочечники после длительного ее подавления иногда требует очень большого времени — до 12 месяцев. Важно учитывать опасность возникновения недостаточности надпочечников и по возможности избегать ее.

Один из рекомендуемых для этого способов (см. Melby) заключается в применении стероидов с относительно краткосрочным действием, например преднизолона, и назначении их *через день.* Считают, что такая схема лечения ослабляет степень подавления секреции КРФ и соответственно АКТГ, что облегчает отмену препаратов. Стероиды с большей продолжительностью действия, например β-метазон и дексаметазон, для этой цели не пригодны.

Ингибирование фиброплазии

Наиболее ярким проявлением угнетения функции и деления фибробластов под действием глюкокортикоидов служит *замедление заживления ран*. Глюкокортикоиды не только нарушают утилизацию глюкозы фибробластами, но и ингибируют в них синтез ДНК, тормозя тем самым деление клеток (см. Henderson, Loeb). Сочетание сниженной продукции коллагена и замедления клеточного деления существенно нарушает репаративную фазу воспалительного процесса при механической, например хирургической, травме.

Действие на иммунную систему

Кортикостероиды принимают участие во многих процессах, сопряженных с реакцией гиперчувствительности, обусловленной взаимодействием антител с экзогенными или эндогенными антигенами. Одно время считали, что кортизол нарушает продукцию антител, оказывая лимфолитическое действие. В настоящее время установлено, что даже большие дозы глюкокортикоидов не влияют на титр содержащихся в крови антител. Однако они, несомненно, тормозят воспалительные процессы (клеточно-опосредованные), которые запускаются реакциями гиперчувствительности. Иными словами, они действуют главным образом как антивоспалительные средства при уже имеющейся гиперчувствительности, точно так же, как подавляют воспалительные реакции, вызванные другими факторами. Именно поэтому глюкокортикоиды служат ценным вспомогательным средством при лечении тяжелых аллергических состояний и — в сочетании с иммуносупрессивной терапией — используются в профилактике отторжения гетерологичных трансплантатов.

Антивоспалительные эффекты

Антивоспалительный эффект *фармакологических* доз глюкокортикоидов надпочечников был эмпирически открыт Хенчем и Кендаллом в 1949 г. С тех пор замечательная способность глюкокортикоидов ингибировать воспалительную реакцию подвергалась всестороннему изучению, но до сих пор отсутствует единая гипотеза, которая бы удовлетворительно объясняла механизм этого феномена. Поскольку антивоспалительные глюкокортикоиды используются очень широко, рассмотрим вкратце процесс воспаления.

Принято считать, что стандартная последовательность реакций, возникающих при повреждении ткани, заключается в мобилизации ресурсов для борьбы с собственно повреждением и

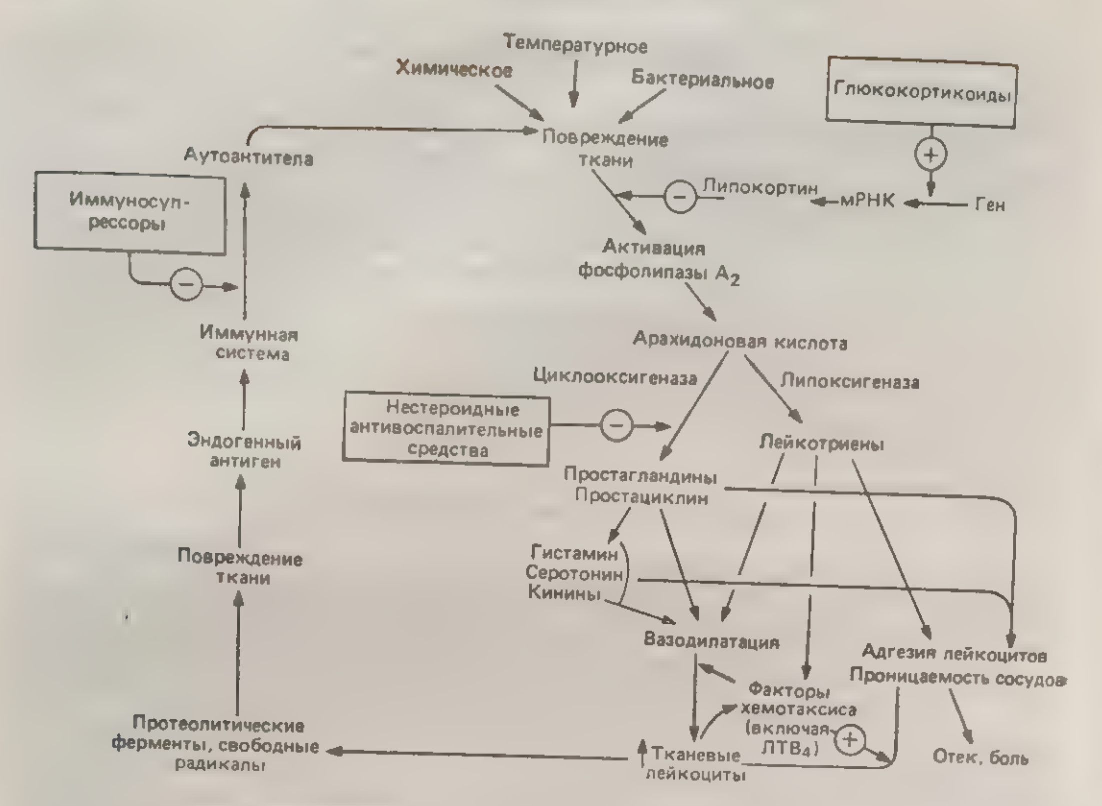


Рис. 11-12. Центральная роль метаболитов арахидоновой кислоты в инициации и поддержании воспаления: точки приложения действия трех групп антивоспалительных средств. Простагландины влияют на секрецию и действие гистамина, серотонина и кининов.

восстановления целостности ткани; однако воспалительный процесс сам по себе может оказывать повреждающий эффект и вызывать боль и функциональные нарушения. Это особенно справедливо, когда исходное повреждение поддерживается аутоиммунным механизмом, т. е. потерей способности различать «свое» и «не свое». В этом случае «врагом», которого следует сдерживать, служат не попавшие извне микроб или заноза, а собственные антигены, против которых иммунная система ошибочно продуцирует антитела. Однажды начавшись, аутоиммунная реакция приобретает способность к самоподдерживанию, и возникающее хроническое воспаление может привести к деструкции ткани и в конечном итоге к инвалидности. При этом «бессмысленном» воспалении особенно важно применять антивоспалительные средства. Следует подчеркнуть, что ингибирование воспалительной реакции, ослабляющее такие симптомы, как боль и нарушение функции, не затрагивает основного патологического процесса. Оно просто подавляет некоторые его проявления. В ряде случаев это может быть крайне опасным, поскольку симптомы воспаления (боль, лихорадка, недомогание) служат важными сигналами надвигающейся угрозы, например бакте-

риальной инфекции. Известно, что у лиц, получающих антивоспалительные дозы стероидов, тяжелые инфекционные заболевания развиваются без всяких начальных признаков.

Процесс воспаления столетиями привлекал к себе внимание биологов; с 1949 г. интенсивно изучается антивоспалительный эффект глюкокортикоидов. Однако центральную роль эйкозаноидов (метаболитов арахидоновой кислоты) в воспалении удалось выяснить совсем недавно. На рис. 11-12 представлена схема воспалительного процесса и указаны точки приложения действия трех видов антивоспалительных средств, включая глюкокортикоиды. Некоторые аспекты данной проблемы обсуждались в гл. 4.

Подобно генерализованной реакции на травму, схема которой приведена на рис. 11-10, воспалительный процесс можно подразделить на три фазы: 1) *самая ранняя,* характеризующаяся вазодилатацией, адгезией лейкоцитов к эндотелию капилляров и скоплением полиморфноядерных лейкоцитов в месте повреждения; 2) *промежуточная* фаза, суть которой составляет локальный протеолиз, и 3) *восстановительная* фаза, во время которой происходит синтез белка, пролиферация клеток и реваскуляризация. Воспаление может возникать при различных повреждающих воздействиях, включая бактериальные, механические, химические и термические, равно как и тканевую гипоксию (как, например, при коронарном тромбозе). При устранении причины воспаления (например, с помощью антибиотиков в случае бактериальной инфекции, удаления занозы или асептического закрытия операционной раны) воспалительный процесс успешно проходит третью фазу. Если же он вызывается аутоиммунной реакцией, то может самоподдерживаться (см. рис. 11-12), приводя к деструкции ткани и утрате ее функции. Все молекулярные медиаторы воспаления присутствуют повсеместно: это — метаболиты мембранных фосфолипидов (эйкозаноиды); содержащиеся в секреторных гранулах тучных клеток гистамин и серотонин; высокомолекулярные предшественники локально образующихся продуктов протеолиза (кинины, факторы хемотаксиса, вазоактивные вещества, продукты комплементарного каскада, не показанные на рис. 11-12).

Следует подчеркнуть первостепенную роль фосфолипазы A_2 в инициации воспалительной реакции (см. схему на рис. 11-12). Значение образования простагландинов в этом процессе выяснилось после того, как Вейн (Vane) показал, что аспирин (а позднее обнаружилось, что и другие нестероидные антивоспалительные средства) представляет собой ингибитор циклооксигеназы. Далее были охарактеризованы продукты липоксигеназного пути и оказалось, что лейкотриен B_4 является высокоактивным фактором хемотаксиса, а медленно реагирующее ве-

щество анафилаксии (МРВ-А) — комплексом пептидолипидных лейкотриенов (гл. 4).

Важнейшую роль в воспалении играют полиморфноядерные лейкоциты. Более ста лет назад Мечников описал их миграцию из крови в очаг воспаления и постулировал, что без лейкоцитов нет воспаления. Позднее было показано, что если у собак введением специфического ингибитора подавлено образование полиморфноядерных лейкоцитов, то у них не развивается воспалительная реакция. На самой ранней стадии воспаления, когда происходит высвобождение гистамина и серотонина из гранул тучных клеток, можно наблюдать, как лейкоциты прилипают к эндотелию расширившихся капилляров. Расстояние между соседними эндотелиальными клетками увеличивается, и богатый белками транссудат, а также лейкоциты проходят через сосудистую стенку и проникают во внесосудистое пространство. Здесь лейкотриен B_4 и пептиды хемотаксиса стимулируют лейкоциты к секреции лизосомных ферментов и, если есть необходимость, к фагоцитозу микроорганизмов. Этот процесс сопровождается образованием лейкоцитами свободных радикалов, которые, являясь грозным оружием против внедрившихся микробов, могут — в сочетании с локально секретируемыми протеолитическими ферментами — вызывать и повреждение ткани.

Простагландины и лейкотриены действуют на всех этапах процесса воспаления. Простагландины усиливают как секрецию гистамина и серотонина тучными клетками, так и влияние этих соединений на капилляры. Они ингибируют продукцию кининов. Лейкотриен B_4 является фактором хемотаксиса и стимулирует полиморфноядерные лейкоциты, тогда как пептидолипидные лейкотриены обладают стойким сосудорасширяющим эффектом, а также стимулируют гладкую мускулатуру бронхов. Простагландины вместе с кининами воздействуют на болевые рецепторы.

Схема, приведенная на рис. 11-12, весьма упрощена. На ней не показаны многие одновременно протекающие реакции, являющиеся важными компонентами процесса воспаления. К ним относится *активация системы комплемента,* которая приводит к образованию многих биологически активных веществ, включая пептиды хемотаксиса, вазоактивные соединения и другие метаболиты, инициирующие продукцию *лимфокинов* В-лимфоцитами. Лимфокины выступают в роли медиаторов и координаторов поздних стадий воспаления. Кроме того, активируется *система свертывания крови,* образуется фибрин; в ответ мобилизуется антисвертывающая система *плазмин-фибринолизин.*

Если воспаление достигает своей адаптивной цели, фаза протеолиза сменяется репарацией и восстановлением поврежденных структур. В процессе репарации основную роль играют

синтез белка, рост и деление клеток; при этом откладывается коллаген и образуются новые кровеносные сосуды; в конечном итоге формируется рубцовая ткань (рубцевание раны).

Механизм антивоспалительного эффекта глюкокортикоидов

В больших дозах (превышающих суточные потребности адреналэктомированных животных или людей) глюкокортикоиды ингибируют практически все фазы воспалительного процесса. Они блокируют расширение капилляров, адгезию и миграцию лейкоцитов, секрецию гистамина и серотонина, образование кининов, активацию системы комплемента, свертывания крови и систему плазмин-фибринолизин. Кроме того, они ингибируют и все процессы репаративной фазы: рост и деление фибробластов, синтез коллагена, неоваскуляризацию и рубцевание.

С выяснением роли простагландинов в воспалительном процессе появились основания для новых исследований механизма антивоспалительного действия глюкокортикоидов. Так, было показано, что глюкокортикоиды, подобно нестероидным антивоспалительным средствам, тормозят синтез простагландинов in vivo. Однако они ингибируют не циклооксигеназу, а фосфолипазу A_2 и этим уменьшают доступность арахидоновой кислоты для синтеза *как* простагландинов, *так и* лейкотриенов.

Механизм ингибирования фосфолипазы A_2 под действием глюкокортикоидов был выяснен лишь недавно. В 1980 г. Блэкуелл и др. (Blackwell et al.) открыли индуцируемый глюкокортикоидами белок (названный «макрокортином»), который ингибировал фосфолипазу A_2. В том же году Хирата и др. (Hirata et al.) открыли аналогичный белок (названный «липомодулином»), продуцируемый лейкоцитами. Вскоре после этого белки со сходными свойствами были обнаружены в почечной ткани («ренокортины»). Хотя мол. массы очищенных белков не совпадают, исследователи объясняют эти различия возможными погрешностями в процессе выделения и считают, что все белки близки друг другу и соотносятся как мономер : димер : тример. Поскольку разнообразие терминов грозило возникновением путаницы, исследовательские группы, открывшие эти белки, согласились отказаться от первоначальных наименований и называть все эти ингибиторы фосфолипазы A_2 *липокортинами*. Липокортины относятся к липопротеинам, и скорость их синтеза и секреции клетками разных типов резко возрастает под действием глюкокортикоидов. В очищенном виде эти белки тормозят продукцию эйкозаноидов большинством интактных клеток, причем этот эффект снимается избытком фосфолипидов. Липокортины инактивируются при фосфорилировании и реактивируются

под действием щелочной фосфатазы. Во всех изученных случаях повышение скорости их синтеза и секреции под влиянием глюкокортикоидов зависело от опосредуемого рецептором возрастания скорости транскрипции гена липокортина (см. следующий раздел). Приятно получить «молекулярное объяснение» выдающегося открытия Хенча и Кендалла 1949 года!

Клеточный механизм действия глюкокортикоидов

Кортизол (или у некоторых видов кортикостерон) воздействует на разнообразные клетки и вызывает много различных ответных реакций. В некоторых случаях он является основным агонистом, тогда как в других — лишь «разрешает» другому гормону проявить соответствующий эффект. Чаще всего кортизол в первую очередь стимулирует *катаболические* процессы: например, *лимфоцитолиз* при лимфоцитарной лейкемии у животных и человека; торможение синтеза белка в *скелетных мышцах;* снижение синтеза белков, включая коллаген в коже; торможение метаболизма в *фибробластах,* а также их деления и роста; антиинсулиновый эффект и пермиссивное действие в отношении липолитических гормонов в *адипоцитах;* торможение синтеза проопиомеланокортина в *гипофизе.*

С другой стороны, тот же молекулярный сигнал может вызывать *анаболические* реакции, такие, как индукция синтеза специфических ферментов или даже (печень) гипертрофия органа. Примерами анаболических реакций на глюкокортикоиды служат: в *гипофизе* — стимуляция синтеза гормона роста; во *многих клетках* — стимуляция синтеза липокортина (см. выше, раздел об антивоспалительных эффектах); в *печени* — индукция ферментов глюконеогенеза, синтез гликогена и гипертрофия органа, индукция синтеза ДНК; в *эмбриональной сетчатке* — индукция глутаминсинтетазы; в *эмбриональном легком* — повышение включения холина в лецитин, синтез сурфактанта; в *мозговых клетках* — синтез неидентифицированных веществ, влияющих на возбудимость нейронов.

Причина внешне столь несхожих эффектов кроется в самих реагирующих клетках. К моменту окончательной дифференцировки клетки каждого типа «выбирают» не только то, гены каких рецепторов и вспомогательных белков будут экспрессироваться, но и возможность таких изменений конфигурации хроматина, которые позволяют гормон-рецепторному комплексу избирательно стимулировать синтез определенных мРНК. *Как катаболические, так и анаболические реакции в конечном счете зависят от транскрипции генов.* Выше мы уже рассматривали аналогичную ситуацию с тиреоидными гормонами.

Таким образом, общий механизм действия глюкокортикоидов укладывается в основную схему действия стероидных гормонов, приведенную в гл. 2:

Гормон (Г) + Рецептор (Р) ⟶ Г·Р,

Г·Р + Ядерный акцептор ⟶ Комплекс Г·Р·Ядерный акцептор.

Каким-то неизвестным путем комплекс Г·Р·ядерный акцептор обусловливает образование специфических мРНК для синтеза определенных белков. Эти белки и обеспечивают координированную реакцию на гормон.

Рецепторы глюкокортикоидов по величине и иным свойствам сходны с рецепторами других стероидных гормонов. По форме они более или менее напоминают толстую сигару, а их мол. масса составляет 94 000. Они были первыми рецепторами стероидов, обнаруженными в различных тканях (Funder). Как и рецепторы катехоламинов, рецепторы глюкокортикоидов классифицируются по сродству к различным лигандам. Так, рецепторы *типа I* обладают высоким сродством к природным глюкокортикоидам (кортизолу, кортикостерону) и меньшим — к синтетическим (дексаметазону). Считают, что в центральной нервной системе они имеют отношение к периодическим и циклическим (суточным) изменениям секреции КРФ. В почечных канальцах обнаружены рецепторы альдостерона, неотличимые от рецепторов типа I. В гл. 12 мы попытаемся объяснить, почему альдостерон предпочтительно взаимодействует с рецепторами типа I в клетках почечных канальцев даже в присутствии тысячекратного избытка кортизола. Рецепторы *типа II*, широко представленные в организме, изучены гораздо подробнее. По определению они обладают умеренно высоким сродством к дексаметазону и меньшим — к природным гормонам.

Как было показано методом ограниченного протеолиза, рецептор глюкокортикоидов состоит из трех доменов: 1) на одном конце рецептора расположен стероид-связывающий домен (мерорецептор), который взаимодействует с обеими поверхностями плоской стероидной молекулы; на его долю приходится около 25% интактного мономера; 2) на другом конце находится ДНК-связывающий участок (примерно того же размера, что и мерорецептор), который связывает ДНК даже с бóльшим сродством, чем интактный мономер; 3) промежуточный иммунореактивный домен (составляющий половину массы интактного мономера) получил название «спецификатор». Он содержит основные антигенные детерминанты и может направлять комплекс Г·Р к соответствующим участкам генома, взаимодействуя с белком хроматина. Мутанты, лишенные «спецификатора», обнаруживают повышенное связывание рецептора с ДНК и нечувствительность к стероидным гормонам.

Рецептор может существовать в виде олигомера или мономера, причем оба способны связывать гормон, однако с ядерными акцепторами взаимодействует лишь мономерная форма Г·Р.

Рецепторный цикл

Недавние исследования рецепторов глюкокортикоидов выявили, что стандартная схема действия стероидных гормонов, описанная в гл. 2, не учитывает всю тонкость и сложность процесса. Руссо (Rousseau, 1984), обобщив большое количество экспериментальных данных, предложил модель глюкокортикоид-рецепторного цикла. Эту модель полезно рассмотреть, поскольку имеются указания, что во многом она применима не только к глюкокортикоидам, но и к другим стероидам, особенно андрогенам и прогестерону.

Помимо того что рецептор может существовать либо в олигомерной, либо в мономерной форме, было показано, что: 1) рецептор может находиться либо в фосфорилированном, либо в дефосфорилированном состоянии; 2) он содержит S в виде либо SH, либо S—S и 3) существует по крайней мере один фактор — F (неизвестного строения), который стабилизирует комплекс Г·Р. «Активация» означает изменение рецептора, придающее ему способность связывать стероид. Под «трансформацией» подразумеваются такие конформационные изменения комплекса Г·Р, которые придают ему способность взаимодействовать с компонентами хроматина.

Рецептор глюкокортикоидов может существовать в пяти различных состояниях (или формах):

А. Олигомер, SH+Фосфор+F (активированный).
Б. (А), связанный с глюкокортикоидным гормоном.
В. (Б), диссоциированный на мономеры; лишенный фосфора (т. е. дефосфорилированный) и F (трансформированный).
Г. (В), связанный с ДНК и другими компонентами хроматина.
Д. (Г), отделившийся от ДНК в S—S-форме.

Обработка (Д) протеинкиназой, АТФ и F восстанавливает состояние (А), т. е. активирует систему, придавая ей способность связывать стероид. Как отмечалось выше, эта модель, видимо, применима и к другим стероидам. Действительно, Лиао (см. гл. 8) построил аналогичную модель для андрогенов.

Ядерные процессы

Как вкратце упоминалось в гл. 2, избирательное связывание Г·Р с определенными последовательностями ДНК впервые было показано при изучении действия глюкокортикоидов (см. Ringold, 1985). В 1971 г. Мак-Грат (McGrath) обнаружил, что

глюкокортикоиды стимулируют продукцию вируса рака молочных желез мышей (MMTV) в культуре этих опухолевых клеток. MMTV относится к семейству ретровирусов, т. е. вирусов с однонитевой РНК, которая реплицируется с помощью обратной транскриптазы путем образования провирусной ДНК. Провирус внедряется в геном клетки хозяина и транскрибируется с образованием вирусной РНК. После определения нуклеотидной последовательности провирусной ДНК было показано, что протяженный участок, кодирующий компоненты вируса, окружен двумя длинными нетранскрибируемыми последовательностями, названными длинными концевыми повторами (LTR, от англ. long terminal repeats) и состоящими из 1350 пар оснований. Применяя рестрикционные ферменты, исследователи установили, что в LTR, предшествующем точке инициации транскрипции, содержатся две различные последовательности оснований: одна — *промоторный* участок, расположенный относительно близко к точке инициации, и другая — *регуляторный* участок длиной в 140—190 оснований, более отдаленный от этой точки. Анализируя рестрикционные фрагменты разной длины, экспериментаторы нашли, что участок от —140 до —190 н. одновременно является областью предпочтительного *связывания* комплекса глюкокортикоид-рецептор и регуляторной областью для индукции транскрипции вирусной РНК. В рекомбинантных плазмидах, содержащих LTR MMTV и кДНК трех ферментов, в обычных условиях, не индуцируемых глюкокортикоидами, каждый из этих ферментов становится индуцибельным. Сходное избирательное связывание комплекса Г·Р было показано для генов, кодирующих ферменты печени, индуцируемые глюкокортикоидами (тирозинаминотрансфераза и триптофаноксигеназа). Все участки ДНК, с наиболее высоким сродством связывающие in vitro комплекс Г·Р, содержат одну и ту же гексануклеотидную последовательность: Т — Г — Т — Т — Ц—Т. Удивительно, что одинаковые последовательности и соответственно участки ДНК, связывающие Г·Р с высоким сродством, встречаются и в середине вирусного генома, и в левом LTR, но значение связывания в этих участках остается неизвестным. Связывание с ДНК может играть роль в инициации транскрипции определенных участков, но оно наверняка не определяет весь процесс. Обнаружен белок, который сам по себе с ДНК не связывается, но облегчает связывание комплекса Г·Р с ДНК MMTV. Не исключена и возможность того, что «спецификатор» (иммунореактивная половина мономерного рецептора) играет роль зонда при поиске регуляторной последовательности ДНК, аналогичную роли субъединицы прогестеронового рецептора цыпленка — субъединицы, связывающей специфический кислый белок.

Структура хроматина и доступность гормон-рецепторного комплекса для ДНК

В гл. 2 рассматривались различные уровни структурной организации хроматина и отмечалось, что сложность его структуры может определять взаимодействие между Г·Р и ДНК. Один из подходов к решению этой проблемы (M. M. Ip et al.) заключается в изучении связывания глюкокортикоидного рецептора с ДНК в мононуклеосомах (из чувствительной к глюкокортикоидам лимфосаркомы), содержащих как сердцевинную (core) ДНК (183 п. н.), так и линкерную ДНК (168 п. н.). С каждым из этих доменов ассоциированы различные виды белков. Комплекс Г·Р избирательно связывался с ДНК нуклеосомы, где отсутствует гистон H_1. Это исследование подчеркивает сложную природу внутриядерной среды, в которой должен «плавать» Г·Р, прежде чем он достигнет места своего назначения — регуляторных последовательностей ДНК, где инициируется транскрипция нескольких генов.

Избирательная активация генов глюкокортикоидами

Главным результатом связывания гормон-рецепторного комплекса в ядре является накопление специфических мРНК. Изучение этой проблемы применительно к глюкокортикоидам сталкивается с большими трудностями, поскольку в клетках-мишенях экспрессируется обычно всего лишь около 10% ДНК, а глюкокортикоиды влияют на синтез только 0,5—1% продуктов. Несмотря на столь ничтожный процент, удалось показать, что глюкокортикоиды стимулируют накопление мРНК следующих белков: тирозинаминотрансферазы, триптофаноксигеназы, фосфоенолпируваткарбоксилазы, глутаминсинтетазы и прогормона роста.

Первые три принадлежат к ферментам глюконеогенеза; индукция их синтеза кортизолом была показана на культуре клеток печени или минимально измененных клеток гепатомы. Индукцию синтеза глутаминсинтетазы удалось показать в сетчатке глаза зародыша птиц.

Исследования синтеза прогормона роста в опухолевой линии клеток передней доли гипофиза особенно интересны; они выявили кооперативное действие тиреоидного гормона (T_3) и синтетического глюкокортикоида. Каждый из этих гормонов порознь индуцирует появление мРНК высокомолекулярного предшественника гормона роста. Однако реакция на совместное действие обоих соединений превышает сумму их эффектов.

Генетический анализ действия глюкокортикоидов

Многие аспекты действия глюкокортикоидов были подтверждены генетическими экспериментами Ямамото и др. (Yamamoto et al.), которым удалось выделить мутантные клетки лимфомы S49 (нормальные обычно погибают в присутствии глюкокортикоидов), дефектные либо по связыванию гормона, либо по связыванию комплекса Г·Р в ядре. Другие мутанты (получившие название «бессмертных») оказались резистентными к стероиду, несмотря на сохранившуюся способность к связыванию в ядре комплекса Г·Р. В таких клетках мутация должна была затрагивать какие-то процессы, происходящие после этого связывания. Полученные данные могут представлять существенный интерес для онкологов, поскольку описаны резистентные к глюкокортикоидам лимфомы, в которых отсутствуют рецепторы. Такой подход к характеристике опухолей и прогнозированию их ответных реакций напоминает работы по раку молочной железы, рассмотренные выше.

Влияние глюкокортикоидов на рост

Один из наиболее интересных эффектов кортизола и родственных соединений заключается в торможении роста быстро растущих экспериментальных животных, а также детей. Этот эффект изучали Лёб и др. (Loeb et al.), используя включение радиоактивного тимидина в качестве показателя синтеза ДНК в двух разных типах тканей: 1) в тканях, где синтез ДНК отражает разрастание клеток (печень, сердце, скелетная мышца, почка), и 2) в тканях, где синтез ДНК отражает интенсивность обновления клеточной популяции (слизистая оболочка кишечника и желудка, семенники, селезенка). В клетках первой группы низкие дозы глюкокортикоидов останавливали синтез ДНК. Это наблюдалось в печени, где одновременно происходила избирательная стимуляция транскрипции ДНК. Клетки второй группы, популяции которых быстро сменяются, обнаруживали резистентность к эффекту глюкокортикоидов. Молекулярные механизмы этих эффектов неизвестны.

Влияния на эмбриогенез

Как уже отмечалось, в эмбриогенезе стероидные и тиреоидные гормоны служат сигналами дифференцировки. Хотя на изучение механизмов действия гормонов затрачены колоссальные усилия исследователей, до сих пор неизвестно, каким образом они влияют на процесс дифференцировки.

Один из подробно изученных эффектов глюкокортикоидов в эмбриогенезе заключается в индукции фермента *глутаминсинтетазы* в сетчатке глаза зародыша птиц. Первоначально уровень этого фермента крайне низок, но резко возрастает примерно за пять дней до того, как цыпленок должен вылупиться из яйца. В органной культуре интактной сетчатки глаза, взятой на ранней стадии развития, добавление кортизола индуцирует синтез фермента. Для этого требуется двухчасовой лаг-период.

Второй эффект кортизола в эмбриогенезе представляет интерес для микропедиатров и других специалистов, которым приходится лечить детей с *респираторным дистресс-синдромом*. Это состояние, часто наблюдаемое у недоношенных детей, связано с отсутствием *сурфактантов* — лецитинов, снижающих поверхностное натяжение, — которые покрывают альвеолярную поверхность легких, обеспечивая их расправление и аэрацию. Для перехода новорожденного к самостоятельному дыханию необходим синтез этих фосфолипидов.

Роль глюкокортикоидов в созревании легких была постулирована на основании экспериментов с эмбрионами овец. В дальнейшем ускорение созревания легких при введении глюкокортикоидов было показано у многих видов, включая человека. Так, если женщины принимают перорально глюкокортикоиды между 28 и 32 неделями беременности, то у них в амниотической жидкости повышается отношение лецитин/сфингомиелин. Это отношение рассматривается как показатель продукции сурфактанта и позволяет прогнозировать возможность развития респираторного дистресс-синдрома. Для предупреждения этого синдрома применяют кортизол с целью индукции ферментов, катализирующих синтез сурфактантных фосфолипидов.

Последние работы по *дифференцировке молочных желез* показали, что созревание этих структур и их способность синтезировать и секретировать молоко обусловливаются очень сложным гормональным ансамблем, в котором важную роль играет и кортизол. Дифференцировка эксплантатов молочной железы в органной культуре требует присутствия инсулина, пролактина и кортизола. Эпителиальные клетки эксплантата превращаются в альвеолярные только после предварительного деления. Инсулин выполняет функцию митогена, стимулируя клеточное деление в данной системе. Кортизол воздействует на первое поколение дочерних клеток, индуцируя синтез целой группы ферментов, принимающих участие в липогенезе. Только после этого клетки приобретают способность синтезировать белки молока в ответ на действие пролактина. Роль кортизола в этом сложном процессе тем удивительнее, что в *печени* он репрессирует синтез тех самых ферментов, которые индуцируются в молочной железе (см. Turkington et al.).

Мы рассмотрели эффекты кортизола в процессах развития; однако глюкокортикоиды, в фармакологических дозах вводимые беременным животным, могут обусловливать и *пороки развития,* в частности волчью пасть и заячью губу.

Для нормального развития нёба требуется точно приуроченная ко времени и строго локализованная секреция лизосомных ферментов. Эти катаболические ферменты вызывают распад эпителия на сходящихся медиальных краях двух половин развивающегося нёба, которые должны плотно сомкнуться. Глюкокортикоиды препятствуют распаду эпителия, а тем самым и смыканию двух половин нёба. В органной культуре тератогенный эффект глюкокортикоидов можно в значительной степени ослабить с помощью арахидоновой кислоты. В последующем Гупта и др. (Gupta et al.) показали, что этот эффект глюкокортикоидов можно воспроизвести, используя очищенный белок, ингибирующий фосфолипазу A_2; в тот период еще не было термина *липокортин* (см. выше), и авторы обозначили этот белок как PLIP (от англ. phospholipase A_2 inhibitory protein). В связи с этим интересным наблюдением возникает вопрос, возможно ли с помощью липокортина имитировать и какие-либо другие эффекты глюкокортикоидов.

Синтетические глюкокортикоиды

Широкое применение стероидов коры надпочечников в качестве антивоспалительных агентов стимулировало поиски соединений с усиленными положительными и ослабленными отрицательными свойствами этих гормонов. Химики-органики синтезировали многочисленные аналоги кортизола, каждый из которых на экспериментальных животных подвергался проверке на глюкокортикоидную (отложение гликогена), соль-задерживающую (отношение Na^+/K^+ в моче или другие показатели) и антивоспалительную (торможение искусственно вызванного воспаления) активность. Перспективные соединения, выявленные при таком скрининге, проходили клинические испытания. Таким эмпирическим методом удалось получить много полезных препаратов.

Галогенированные стероиды вначале были получены как промежуточные продукты лабораторного синтеза кортизона из природных предшественников. При фторировании кортизола в 9α-положении резко возрастала как соль-задерживающая, так и глюкокортикоидная активность. Активность одного из фторированных производных — 2-метил-9α-фторкортизола — более чем втрое превосходит соль-задерживающую активность альдостерона; этот препарат используется в клинике, причем он эффективно заменяет альдостерон при его недостаточности в перо-

Преднизон (Δ^1-кортизон)

Преднизолон (Δ^1-кортизол)

6α-метилпреднизолон

Δ^1-(1 = 2)-глюкокортикоиды

9α-фторкортизол

9α-фтор-16α-гидрокси преднизолон

9α-фтор-16α-метил преднизолон

9α-фторированные соединения

Рис. 11-13. Синтетические аналоги стероидов коры надпочечников. 9α-фторкортизол вызывает эффективную задержку соли, а 16α-окси-замещенное (триамсинолан) и 16α-метил-замещенное соединения (дексаметазон) представляют собой преимущественно антивоспалительные глюкокортикоиды.

ральной дозе всего 25 мкг/сут. Галогенированные соединения обладают высокой активностью и большой продолжительностью действия при пероральном введении благодаря тому, что устойчивы к разрушению в печени.

Задолго до изучения рецепторов кортизола и альдостерона уже можно было предположить, что они способны различать глюко- и минералокортикоиды. Стероиды Δ^1 (рис. 11-13) — преднизон и преднизолон — отличаются от кортизола и кортизона наличием 1,2-двойной связи в кольце А. Эта модификация увеличивает их глюкокортикоидную активность в 3—5 раз и несколько *уменьшает* соль-задерживающую активность. Поскольку первый клинический опыт применения кортизона и кортизола свидетельствовал об опасности задержки соли и воды у многих лиц, получавших антивоспалительные дозы стероидов, открытие Δ^1-соединений имело большое значение. Эти вещества очень ценны и как стероиды с коротким сроком действия, которые рекомендуются для приема через день (см. выше). Важность этого свойства связана с тем, что период полураспада глюкокортикоидов пропорционален их способности подавлять (по механизму обратной связи) функционирование системы КРФ —

Таблица 11.2. Биологическая активность синтетических аналогов кортизола

Стероид	Антивоспалительная активность (на 1 мг)	Эквивалентная доза, мг	Задержка натрия	Длительность биологического эффекта, ч
Кортизол	1,0	20	1,0	8—12
9α-фторкортизол	10	—	125	—
Аналоги кратковременного действия				
Преднизолон	4	5	0,8	12—36
6α-метилпреднизолон	5	4	0,5	12—36
Триамсинолон (9α-F, 16α-OH-преднизолон)	5	4	0	12—36
Аналоги длительного действия				
Бетаметазон (9α-F,16β-метилпреднизолон)	25	0,6	0	36—54
Дексаметазон (9α-F, 16α-метилпреднизолон)	25	0,6	0	36—54

АКТГ. Более короткий период полураспада указанных соединений обусловливает некоторое восстановление функции тропного комплекса, чего не происходит при использовании стероидов с большей продолжительностью действия (бетаметазон и дексаметазон) (табл. 11.2).

Хотя в разделении антивоспалительного и задерживающего соль и воду эффектов стероидов достигнуты определенные успехи, все же пока не удается отделить их антивоспалительное действие от побочных эффектов, описанных выше как ятрогенная болезнь Кушинга. Если такие стероиды, как бетаметазон и дексаметазон, в 25 раз активнее кортизола по антивоспалительному действию, то они и в 25 раз более активны в отношении индукции неблагоприятных побочных эффектов кортизола.

Одно из важнейших свойств антивоспалительных стероидов заключается в том, что они чрезвычайно активны при местном применении. Их часто используют с минимальным риском общего отравления организма. Глюкокортикоидные препараты, обычно 9α-фторированные соединения, с успехом применяются при заболевании глаз и кожи. Воспаление одиночных суставов или тяжелые бурситы также поддаются местному действию стероидов.

Когда в 1949 г. впервые был обнаружен антивоспалительный эффект стероидов, их начали рассматривать как панацею. По мере накопления клинического опыта выяснились некоторые их недостатки, и они стали использоваться в основном в качестве симптоматических средств при хронических заболеваниях, причем по более строгим показаниям, чем раньше. В настоящее

время они применяются в клинике лишь в тех безвыходных ситуациях, когда неэффективны менее токсичные нестероидные антивоспалительные средства.

Литература[1]

Anderson D. C., Winter J. S. D. (eds.) (1985). Adrenal Cortex, London, Butterworths.

Atkinson J. P., Frank M. M. (1973). Effect of cortisone therapy on serum complement components, J. Immunol., **111**, 1061.

Axelrod J., Reisine T. D. (1984). Stress hormones: Their interaction and regulation, Science, **224**, 452.

Baxter J. D., Ivarie R. D. (1978). Regulation of gene expression by glucocorticoid hormones: Studies of receptors and responses in cultured cells. In: O'Malley B. W., Birnbaumer L. (eds.). Receptors and Hormone Action, vol. 2. New York, Academic Press, pp. 251—295.

Bergland R. M., Page R. B. (1974). Pituitary-brain vascular relations, Science, **204**, 18.

Bondy P. K. (1985). Disorders of the adrenal cortex. In: Wilson J. D., Foster D. W. (eds.). Williams Textbook of Endocrinology, ed. 7. Philadelphia, W. B. Saunders Co.

Bonta I. L., Bray M. A., Parnham M. J. (eds.) (1985). The Pharmacology of Inflammation, Handbook of Inflammation, vol. 5, New York, Elsevier North-Holland, Inc.

Buckingham J. C. (1985). Hypothalamo-pituitary responses to trauma, Br. Med. Bull., **41**, 203.

Cheitlin R., Buckley D. I., Ramachandran K. (1985). The role of extracellular calcium in corticotropin-stimulated steroidogenesis, J. Biol. Chem., **260**, 5323.

De Wied D. (1977). Behavioral effects of neuropeptides related to ACTH, MSH and β LPH, Ann. NY Acad. Sci., **297**, 263.

Engeland W. C., Dallman M. F. (1976). Neural mediation of compensatory adrenal growth, Endocrinology, **99**, 1659.

Funder J. W. (1984). Glucocorticoid receptors and the physiological roles of glucocorticoid hormones. In: Labrie F., Proulx L. (eds.). Endocrinology, Excerpta Medica ICS 655, New York, Elsevier North-Holland, Inc.

Gagner J.-P., Drouin J. (1985). Opposite regulation of proopiomelanocortin gene transcription by glucocorticoids and CRH, Mol. Cell Endocrinol., **40**, 25.

Gardner L. I. (ed.) (1975). Endocrine and Genetic Diseases of Childhood and Adolescence, ed. 2. Philadelphia, W. B. Saunders Co.

Gaunt R. (1975). History of the adrenal cortex. In: Blaschko H., Sayers G., Smith A. D. (eds.). Handbook of Physiology, Endocrinology, vol. 6, Washington, DC, American Physiological Society.

Gerwirtz G., Yalow R. S. (1974). Ectopic ACTH production in carcinoma of the lung, J. Clin. Invest., **53**, 1022.

Gill G. N. (1976). ACTH regulation of the adrenal cortex, Pharmacol. Ther., **2**, 313.

Gill G. N., Crivello J. F., Hornsby P. J. et al. (1982). Growth, function, and development of the adrenal cortex: Insights from cell culture. In: Sato G., Pardee A. B., Sirbasko D. A. (eds.). Growth of Cells in Hormonally Defined Media, vol. 9, Cold Spring Harbor, New York, Conference on Cell Proliferation.

Gospodarowicz D., Hornsby P. J., Gilll G. N. (1977). Control of bovine adrenal cortical cell proliferation by fibroblast growth factor: Lack of effect of epidermal growth factor, Endocrinology, **100**, 1080.

---

[1] См. примечание на с. 40.

Gupta C., Katsumata M., Goldman A. S. et al. (1984). Glucocorticoid-induced phospholipase A_2-inhibitory proteins mediate glucocorticoid teratogenicity in vitro, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **81**, 1140.
Gwynne J. T., Mahaffee D., Brewer H. B. Jr. et al. (1976). Adrenal cholesterol uptake from plasma lipoproteins: Regulation by corticotrophin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73, 4329.
Hall P. F. (1985). Trophic stimulation of steroidogenesis: In search of the elusive trigger, Recent Prog. Horm. Res., **41**, 31.
Haynes R. C. Jr. (1975). Theories on the mode of action of ACTH in stimulating secretory activity of the adrenal cortex. In: Blaschko H., Sayers G., Smith A. D. (eds.). Handbook of Physiology, Endocrinology, vol. 6, Washington, DC, American Physiological Society.
Hirata F. (1984). Lipomodulin: A modulator of cellular phospholipid metabolism In: Cheung W. Y. (ed.). Calcium and Cell Function, vol. 5, New York, Academic Press, pp. 279—290.
Hornsby P. J. (1985). The regulation of adrenocortical function by control of growth and structure. In: Anderson D. C., Winter J. S. D. (eds.). Adrenal Cortex, London, Butterworths, pp. 1—32.
Ip M. M., Milholland R. J., Shea W. K. et al. (1985). The glucocorticoid receptor complexes to the nucleosomal core in P1798 mouse lymphosarcoma, Mol Cell. Endocrinol., **41**, 45.
Jones M. T., Hillhouse E. W. (1977). Neurotransmitter regulation of corticotropin-releasing factor in vitro, Ann. NY Acad. Sci., **297**, 536.
Kerepesi T., Aranyi P. (1985). Low levels of glucocorticoid binding sites in circulating lymphocytes of premature infants suffering from hyaline membrane disease, J. Steroid. Biochem., **22**, 151.
Krieger D. T. (1977). Regulation of circadian periodicity of plasma ACTH Levels, Ann. NY Acad. Sci., **297**, 561.
Krieger D. T., Ganong W. F. (eds.) (1977). ACTH and related peptides Structure, regulation and action (monograph), Ann. NY Acad. Sci., **297**.
Lerner A. B., Buettner-Janusch J. (1961). The structure of human corticotropin (adrenocorticotropic hormone), J. Biol. Chem , **236**, 2970.
Leung K., Munck A. (1975). Peripheral actions of glucocorticoids, Ann Rev. Physiol., **37**, 245.
Lewis D. A. (1984). Endogenous anti-inflammatory factors, Biochem. Pharmacol., **33**, 1705.
Liggins G. C., Howie R. N. (1972). A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants, Pediatrics, **50**, 515.
Loeb J. N. (1976). Corticosteroids and growth, N. Engl. J. Med , **295**, 547
Lund P., Williamson O. H. (1985). Intertissue nitrogen fluxes, Br. Med Bull, **41**, 251.
Melby J. C. (1974). Systemic corticosteroid therapy: Pharmacology and endocrine considerations, Ann. Intern Med , **81**, 505.
Munck A., Guyre P. M., Holbrook N. J. (1984). Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions, Endocr Rev., **5**, 25.
New M. I., Dupont B., Grumbach K. et al. (1983) Congenital adrenal hyperplasia and related conditions. In: Stanbury B , Wyngaarden J B., Fredrickson D. S. et al. (eds.). The Metabolic Basis of Inherited Disease, ed 5, New York, McGraw-Hill Book Co, pp. 973—1000.
Parente I., DiRosea M., Flower R. J. et al. (1984). Relationship between the antiphospholipase and anti-inflammatory effects of glucocorticoid-induced proteins, Eur. J. Pharmacol., **99**, 233.
Ringold G. M. (1985). Steroid hormone regulation of gene expression, Ann. Rev Pharmacol. Toxicol., **25**, 529.
Rousseau G. G. (1984). Structure and regulation of the glucocorticoid hormone receptor, Mol. Cell. Endocrinol., **38**, 1.

Schleimer R. P. (1985). The mechanisms of anti-inflammatory steroid action in allergic diseases, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., **25**, 381.
Selye H. (1946). General adaptation syndrome and diseases of adaptation, J. Clin. Endocrinol., **6**, 117.
Simpson E. R., Waterman M. R. (1983). Regulation by ACTH of steroid hormone biosynthesis in the adrenal cortex, Can. J. Biochem. Cell. Biol., **61**, 692.
Svec F. (1985). Clucocorticoid receptor regulation, Life Sci., **36**, 2359.
Turkington R. W., Majumder G. C., Kadohama N. et al. (1973). Hormonal regulation of gene expression in mammary cells, Recent. Prog. Horm. Res., **29**, 417.
Vale W., Rivier C., Brown M. R. et al. (1983). Chemical and biological characterization of corticotropin releasing factor, Recent. Prog. Horm. Res., **39**, 245.
Weincove C., Anderson D. C. (1985). Interactions between adrenal cortex and medulla. In:Anderson D. C., Winter J. S. D. (eds.). Adrenal Cortex, London, Butterworths, pp. 208—234.
Yamamoto K. R., Gehring V., Stampfer M. R. et al. (1976). Genetic approaches to steroid hormone action, Recent. Prog. Horm. Res., **32**, 3.

Глава 12

Система ренин — ангиотензин — альдостерон

Гипофизэктомия не приводит к смерти, тогда как двусторонняя адреналэктомия несовместима с жизнью. Жизненно важное вещество, выделяемое корой надпочечников — это альдостерон, вызывающий задержку соли. Он вырабатывается клетками клубочковой зоны, т. е. субкапсулярного слоя коры надпочечников. При недостаточности альдостерона почечные канальцы перестают реабсорбировать натрий из первичной мочи, и организм теряет этот элемент. В то же время происходит *задержка* калия; его концентрация в крови и внеклеточной жидкости увеличивается. Продолжительная потеря Na^+ влечет за собой и потерю воды первоначально из внеклеточного пространства, а затем и из внутриклеточных запасов. В конце концов сочетание задержки калия, недостаточности периферического кровообращения и почечной недостаточности неизбежно приводит к смерти. При гипофизэктомии этого не происходит потому, что клетки клубочковой зоны надпочечников в отличие от клеток пучковой зоны даже в отсутствие АКТГ сохраняют свою функциональную активность в той мере, которая достаточна для предотвращения перечисленных сдвигов. АКТГ, по-видимому, все же необходим для оптимальной функции клеток клубочковой зоны. В данной главе мы рассмотрим информационную систему, которая осуществляет основную регуляцию клеток клубочковой зоны.

Система ренин-ангиотензин-альдостерон была открыта двумя группами исследователей, не подозревавших о работах друг друга. Отправной точкой долгих поисков гормона надпочечников, вызывающего задержку соли, явились данные Баумана (Bauman) и Марине (Marine) о потере соли с мочой у адреналэктомированных собак. Первым веществом, обладающим подобным эффектом, был синтетический стероид — дезоксикортикостерон-ацетат (ДОКА), который эффективно предотвращал потерю соли у адреналэктомированных животных и у людей, страдающих аддисоновой болезнью. Изучение этого вещества стимулировало многочисленные поиски «физиологического» ДОКА. Действительно, Лутчер и др. (Luetscher et al.) показали, что в моче некоторых больных присутствует чрезвычайно активный фактор, вызывающий задержку соли. В 1952 г. Симпсон (Simpson) и Тейт (Tait) наконец выделили альдостерон и доказали, что именно он и является гормоном коры надпочечников, вызывающим задержку соли в организме.

Параллельно этим исследованиям другая группа авторов пыталась выяснить роль почек в патогенезе гипертонии. В 1934 г., т. е. в то время, когда жизнь больных с аддисоновой болезнью поддерживали только введением соли, Гольдблатт (Goldblatt) показал, что сужение почечной артерии у собак приводит к повышению артериального давления. В 1939 г. Пейдж (Page) в США и Браун-Менендес (Braun-Menendez) и Лелуа (Leloir) в Аргентине независимо друг от друга обнаружили, что ренин (вещество почечного происхождения, вызывающее гипертонию) представляет собой фермент, отщепляющий вазоактивный фактор от циркулирующего в крови субстрата. Вскоре после установления аминокислотной последовательности вазопрессина и инсулина была расшифрована аминокислотная последовательность ангиотензина II, а затем этот октапептид был синтезирован (1958 г.).

В том же 1958 г. Гросс (Gross) в ФРГ обнаружил у крыс обратную зависимость между солевым балансом и содержанием почечного ренина. В 1960 г., когда Лара (Laragh в Нью-Йорке и Джинест (Genest) в Канаде независимо друг от друга описали повышение секреции альдостерона в ответ на введение ангиотензина; оба направления исследований наконец соединились. Это в свою очередь привело к: 1) развитию современных представлений о роли альдостерона в поддержании водного и электролитного баланса; 2) пересмотру всей проблемы гипертонии; можно надеяться, что на новой основе будут разработаны методы индивидуализированного лечения разных форм этого заболевания. Так, начавшись с гольдблаттовской почечной гипертонии у собак, круг замкнулся: исследования вернулись к проблемам гипертонии.

Общая характеристика системы

Система ренин-ангиотензин-альдостерон напоминает систему гипофиз—периферическая железа в том отношении, что два пептида, образующиеся из прогормона — ангиотензины II и III, — оказывают тропное действие на клетки клубочковой зоны почти таким же путем, каким АКТГ регулирует активность клеток пучковой зоны коры надпочечников. В результате клетки-мишени секретируют стероидный гормон.

Пептиды

Пептиды ренин-ангиотензин-альдостероновой системы показаны на рис. 12-1. *Субстрат ренина* представляет собой глобулин, секретируемый печенью. Фермент ренин расщепляет этот глобулин (между двумя остатками лейцина) с образованием декапептида — ангиотензина I. При действии на ангиотензин I превращающего фермента образуется октапептид — *ангиотен-*

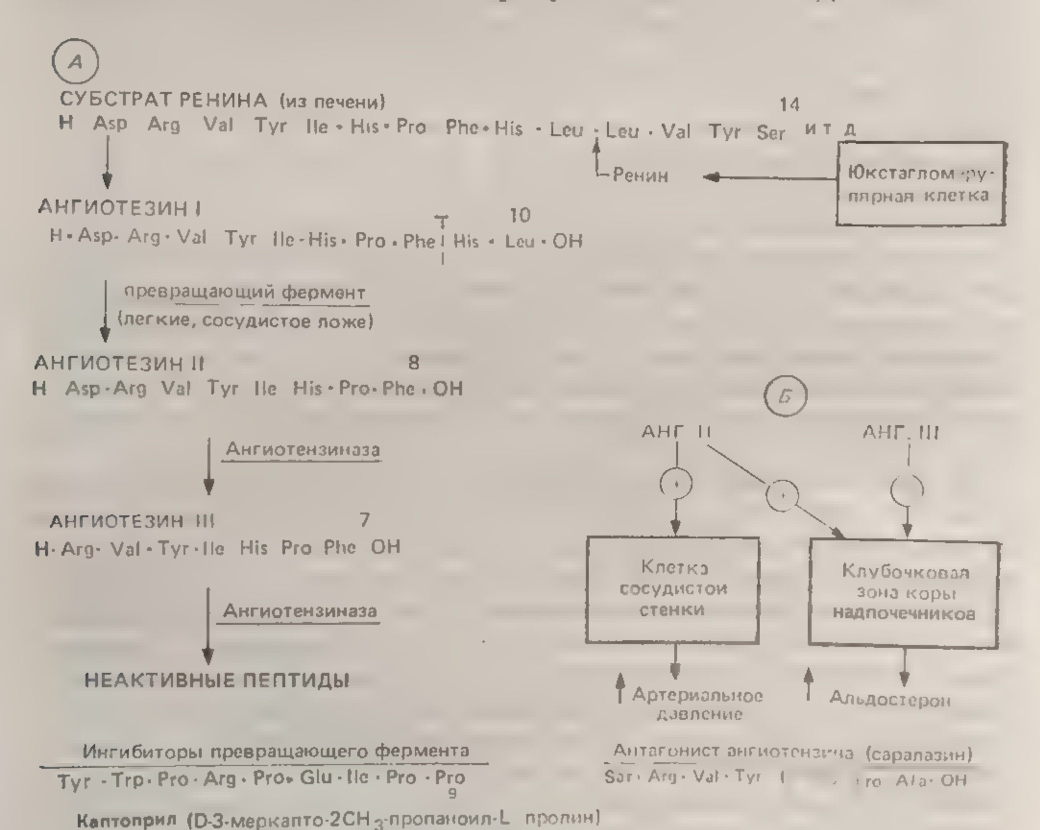
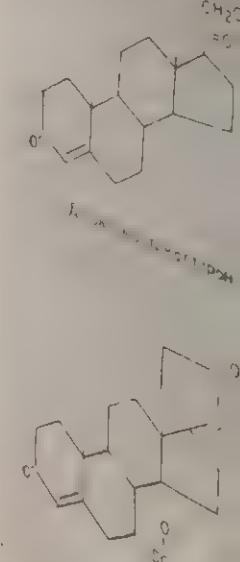


Рис. 12-1. Строение и биосинтез ангиотензинов II и III, а также структура некоторых важных ингибиторов системы.



зин II. Ангиотензин III — это гептапептид. Он образуется при отщеплении от ангиотензина II аспарагина.

Большое число синтетических и природных пептидов проверялось на активность в отношении этой системы. На рис. 12-1 показано строение саралазина — простого пептида, который оказался ингибитором превращающего фермента и конкурентным антагонистом ангиотензина.

Стероиды

На рис. 12-2 показано строение нескольких минералокортикоидов, или стероидов, вызывающих задержку соли. *Дезоксикортикостерон* представляет исторический интерес как первый подробно изученный минералокортикоид. Он лишен гидроксильной группы у второго углеродного атома и потому не обладает глюкокортикоидной активностью. Основным гормональным продуктом клеток клубочковой зоны коры надпочечников является *альдостерон*. Его сользадерживающая активность в 30—50 раз превышает активность дезоксикортикостерона. Альдостерон обладает и глюкокортикоидной активностью, но сользадерживающий эффект столь выражен, что заместительная доза при недостаточности надпочечников у человека составляет всего 100—200 мкг/сут. В то же время заместительная доза кортизола составляет примерно 25 мг/сут. Поэтому глюкокортикоидный потенциал альдостерона не имеет практического значения. Биосинтез альдостерона из холестерола описан в гл. 11.

Дезоксикортикостерон

Альдегид

Альдостерон

Спиронолактоны (антагонисты альдостерона)

9α фторкортизол (синтетическое вещество, вызывающее задержку соли)

Рис. 12-2. Стероиды, родственные альдостерону.

Спиронолактоны представляют собой синтетические аналоги альдостерона, которые при использовании в относительно высоких дозах могут связываться с рецепторами альдостерона, но не инициируют биологической реакции и потому ингибируют действие альдостерона на органы-мишени. Применение спиронолактонов рассматривается ниже.

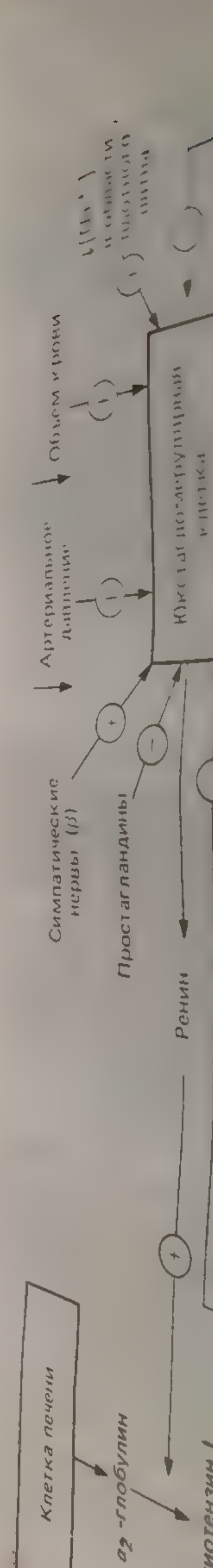
Представитель группы синтетических *9α-фторированных стероидов* показан на рис. 12-2. Некоторые из этих соединений обладают большей сользадерживающей активностью (в пересчете на единицу массы) и большей резистентностью к метаболической инактивации, чем сам альдостерон. Это создает возможность перорального применения 9α-фторированных стероидов и объясняет, вероятно, почему именно синтетические минералокортикоиды, а не альдостерон используются для заместительной терапии при недостаточности альдостерона.

Структура системы

На рис. 12-3 приведена схема ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Юкстагломерулярные клетки афферентных артериол накапливают ренин в секреторных гранулах, похожих на гранулы других секреторных клеток. В данном случае эти гранулы можно рассматривать как специализированные лизосомы, содержимое которых под влиянием определенного сигнала выделяется в кровь. Юкстагломерулярные клетки — это, вероятно, модифицированные гладкомышечные клетки. Содержание животных на бессолевой диете увеличивает число юкстагломерулярных клеток.

Ренин — это обладающий ферментативной активностью гликопротеин с мол. массой около 40 000. О его активности судят по образованию из субстрата ренина ангиотензина II, который определяют радиоиммунологическим или биологическим методом.

Главная функция юкстагломерулярного аппарата — регуляция артериального давления и объема крови. Кроме того, в этот аппарат поступает информация о концентрации Na^+ в канальцевой моче (на уровне плотного пятна); нервная регуляция аппарата осуществляется симпатическими нервами через β-рецепторы. Схема, представленная на рис. 12-3, намеренно упрощена, чтобы показать существование замкнутой петли регуляции в ренин-ангиотензиновой системе. В ответ на снижение артериального давления, объема крови или того и другого вместе юкстагломерулярные клетки начинают секретировать ренин. Он воздействует на α_2-глобулин, поступающий в кровь из печени, и расщепляет его с образованием декапептида ангиотензина I. Затем превращающий фермент, который находится в



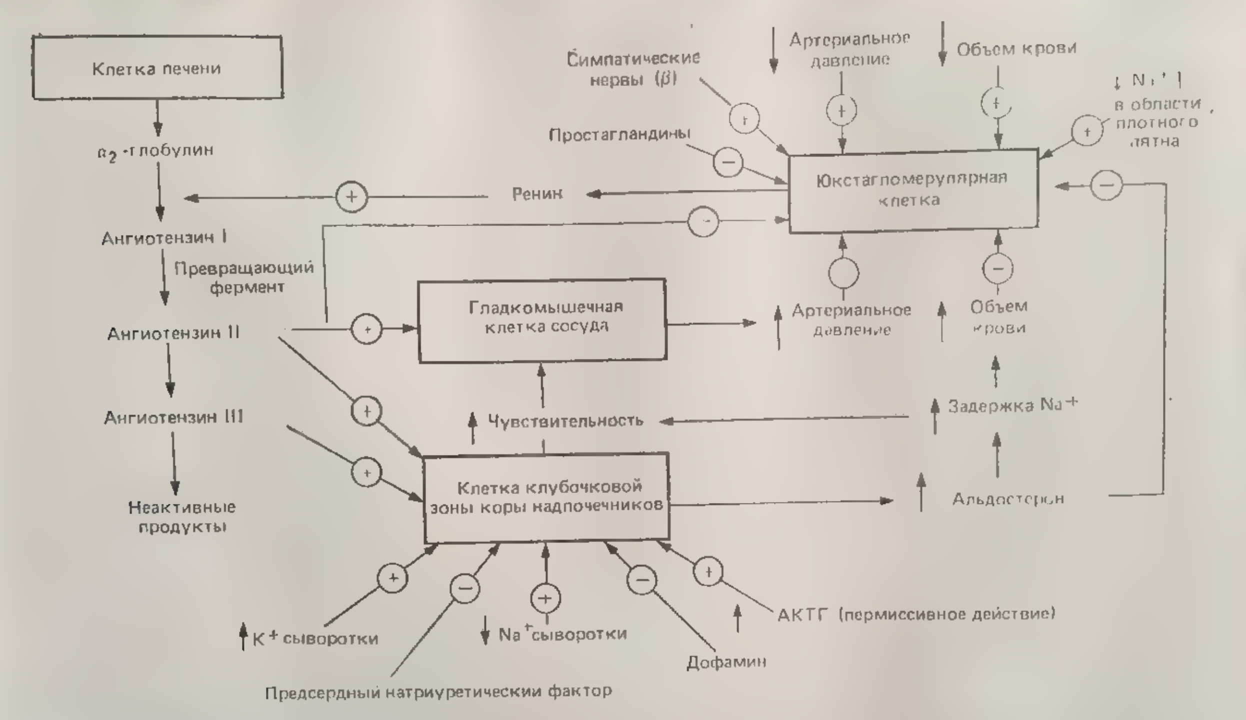


Рис. 12-3. Физиологическая регуляция системы ренин-ангиотензин-альдостерон.

основном в легких, а также и в других частях сосудистого русла, отщепляет от *ангиотензина I* две терминальные аминокислоты с образованием ангиотензина II. Этот октапептид является одним из наиболее активных сосудосуживающих веществ; он вызывает главным образом сужение артериол. Одновременно он выступает в роли тропного гормона для клеток клубочковой зоны, синтезирующих и секретирующих альдостерон. Секретирующие альдостерон клетки надпочечников находятся под контролем целого комплекса факторов, в том числе концентрации электролитов в среде и уровня АКТГ. У некоторых видов АКТГ является основным регулятором секреции альдостерона, но у человека он играет, по-видимому, в основном поддерживающую роль, обеспечивая способность клеток клубочковой зоны реагировать на воздействие ангиотензина.

Недавно было установлено, что продукт метаболизма ангиотензина II, а именно ангиотензин III, является мощным стимулятором секреции альдостерона. Однако у человека ангиотензин II количественно более важен, чем ангиотензин III, поскольку соотношение их концентраций в плазме составляет 5 : 1. Вместе с тем клетки надпочечников обладают, по-видимому, популяцией рецепторов, избирательно связывающих ангиотензин III.

Секреция альдостерона у человека, а также у жабы приводит к одним и тем же результатам: задержке Na^+ и сохранению объема циркулирующей жидкости. Недостаточность альдостерона, как это наблюдается у адреналэктомированных экспериментальных животных или больных аддисоновой болезнью, проявляется в виде потери Na^+ с мочой (натриурез) и задержки K^+. Введение альдостерона способствует реабсорбции Na^+ из клубочкового фильтрата в почечных канальцах и увеличению экскреции K^+ с мочой.

Задержка Na^+ имеет по меньшей мере два следствия: во-первых, увеличивается задержка воды и потому восстанавливается объем жидкости; во-вторых, повышенная концентрация Na^+ придает мышечным клеткам стенок артериол (играющим важную роль в поддержании артериального давления) бóльшую чувствительность к вазоактивным веществам. Эффекты ангиотензинов на артериолы и надпочечники дополняют друг друга и в конечном итоге восстанавливают артериальное давление до стабильного уровня.

Помимо этих эффектов, замыкающих петлю регуляции путем восстановления регулируемых параметров до их исходных значений, альдостерон, как принято считать, оказывает прямое воздействие на юкстагломерулярные клетки по механизму отрицательной обратной связи (подобно тому, как стероидные гормоны тормозят активность гипофиза и гипоталамуса). Восстановление артериального давления и объема крови, а также прямой инги-

биторный эффект альдостерона — все это приводит к эффективному торможению секреции ренина. Имеются некоторые данные о том, что секреция ренина ингибируется по механизму обратной связи не только альдостероном, но ангиотензином II.

Биологическое действие ангиотензина

Клетки клубочковой зоны коры надпочечников

Как говорилось в предыдущей главе, клубочковая и пучковая зоны коры надпочечников представляют собой разные в функциональном отношении железы: они отличаются друг от друга как по продуктам секреции, так и по тем стимуляторам и ингибиторам, которые регулируют их активность.

Стимуляторы секреции альдостерона

Синтез и секрецию альдостерона клетками клубочковой зоны стимулируют не только ангиотензины II и III, но и АКТГ, простагландин E, высокая концентрация K^+ и низкая концентрация Na^+.

Судя по сродству к лигандам, ангиотензины II и III имеют разные рецепторы, но различий в механизме их действия не выявлено. Рецепторы ангиотензина II необычны в том отношении, что в отличие от рецепторов большинства пептидных гормонов служат объектом «повышающей регуляции», т. е. индуцируются своим гормоном. Они не взаимодействуют с аденилатциклазной системой и потому не стимулируют синтез цАМФ, как это делает АКТГ. Активация синтеза альдостерона под влиянием ангиотензинов опосредуется повышением внутриклеточной концентрации Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_ц$) и включением кругооборота полифосфатидилинозитола (рис. 12-4). Судя по последним данным, в активации распада полифосфатидилинозитола участвует G-белок. Одновременно увеличивается приток Ca^{2+} через кальциевые каналы из внеклеточной среды, но как осуществляется связь между «задействованностью» рецепторов и повышением потребления Ca^{2+} клетками, еще не установлено. Стимуляция фосфолипазы C или фосфодиэстеразы полифосфатидилинозитола (не путать с фосфодиэстеразой цАМФ!) приводит к накоплению инозитолтрифосфата и диацилглицерола. Как было показано на схеме в гл. 3, инозитолтрифосфат мобилизует Ca^{2+} из внутриклеточных запасов, а диацилглицерол сенсибилизирует протеинкиназу C к активирующему действию Ca^{2+}. Следует подчеркнуть, что в данном случае $[Ca^{2+}]_ц$ возрастает *как* вследствие притока Ca^{2+} (или торможения его выхода из клетки), *так и* под влиянием инозитолтрифосфата. На некоторые функции клетки повышение $[Ca^{2+}]_ц$ оказывает непосредственный стимулирующий эффект,

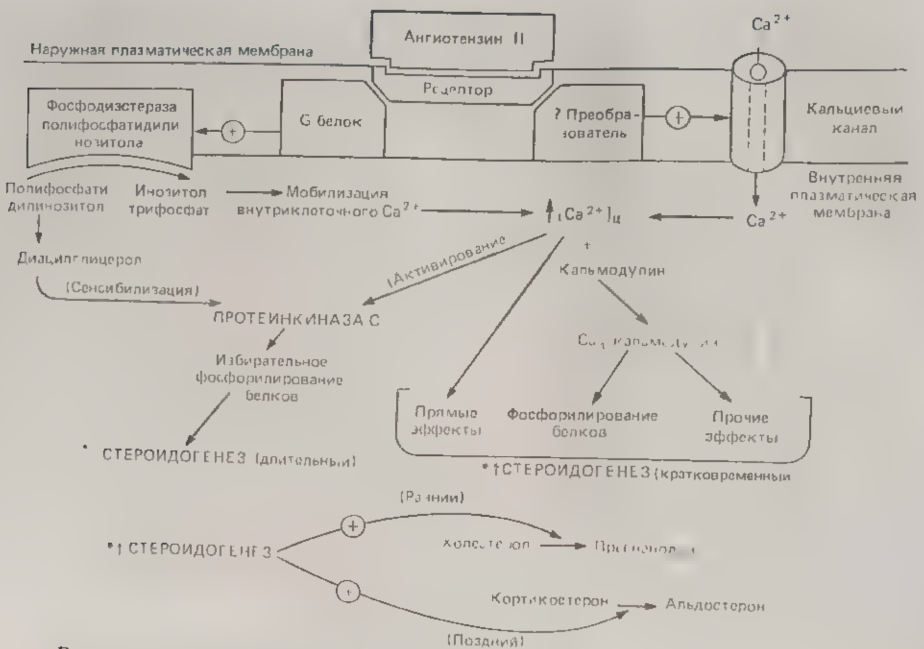


Рис. 12.4. Механизм действия ангиотензина II на клетку клубочковой зоны надпочечников. До сих пор неясно, определяется ли наблюдаемое повышение концентрации Ca^{2+} в цитозоле усилением его притока (как показано на рисунке) или ингибированием оттока. (По Kojima J., Kojima K., Rasmussen H. (1985). J. Biol. Chem., 260, 9171.)

а на другие — опосредованный через комплекс Ca^{2+}-кальмодулин.

Активация синтеза стероидов под действием ангиотензина II протекает в две стадии: в течение первых нескольких минут происходит скачкообразное повышение секреции альдостерона, которое затем сменяется более постепенным и длительным повышением. С помощью тонких экспериментов Койима и др. (Kojima et al.) показали, что первый пик секреции связан с процессами, опосредованными Ca_4-кальмодулином, тогда как длительная стимуляция секреции альдостерона зависит от активации протеинкиназы С. Пик секреции можно воспроизвести с помощью кальциевого ионофора, который быстро увеличивает $[Ca^{2+}]_ц$. Более медленную стимуляцию вызывает диацилглицерол-подобный сенсибилизатор протеинкиназы С. На одновременное добавление обоих реагентов клетки отвечают так же, как на агнотензин II. Как и в случае действия АКТГ на клетки пучковой зоны, реакция на ангиотензин II опосредуется фосфорилированием белков, участвующих в вовлечении холестерола в стероидогенез, причем главным образом на этапе отщепления боковой цепи, катализируемой десмолазой. Точно так же, как длительная стимуляция АКТГ влияет на набор гидроксилирующих ферментов Р-450 в клетках пучковой зоны, непрерывная стимуляция клеток клубочковой зоны ангиотензином II индуцирует и поддерживает уровень цитохрома $P\text{-}450_{C18}$ (а также, несомненно, и предшествующие Р-450).

Другое сходство в действии АКТГ на клетки пучковой зоны и ангиотензина II на клетки клубочковой зоны заключается в обеспечении непрерывного поступления холестерола, необходимого для биосинтеза гормонов. Лейтерсдорф и др. (Leitersdorf et al.) на первичной культуре клеток клубочковой зоны показали, что ангиотензин II при 12—16-часовой инкубации увеличивает опосредованный рецептором захват липопротеинов низкой плотности на 200—300%. Одновременно наблюдается и возрастание числа рецепторов ЛПНП.

Клетки клубочковой зоны реагируют и на АКТГ повышенной секрецией как альдостерона, так и кортизола. В этом случае медиаторами реакции служат цАМФ и Ca^{2+}, но повышение $[Ca^{2+}]_ц$ достигается за счет стимуляции его притока в клетки, а не мобилизации внутриклеточных запасов. Система ренин-ангиотензин-альдостерон может функционировать на достаточном для поддержания жизни уровне и у гипофизэктомированных (т. е. лишенных АКТГ) животных; однако и у интактных животных клетки клубочковой зоны обладают большей чувствительностью к ангиотензину II, чем к АКТГ. Таким образом, АКТГ не является главным стимулятором клеток клубочковой зоны, но способен поддерживать секрецию альдостерона.

Повышение концентрации K^+ тоже стимулирует синтез и секрецию альдостерона; в основе лежит деполяризация мембраны клеток клубочковой зоны и соответственно открытие зависимых от вольтажа кальциевых каналов. Деполяризация активирует и аденилатциклазную систему, что приводит к умеренному повышению уровня цАМФ. Результирующий эффект K^+ в итоге сходен с эффектом АКТГ: повышение $[Ca^{2+}]_ц$ (без мобилизации его внутриклеточных запасов) и фосфорилирование белков цАМФ-зависимой протеинкиназой.

Общее впечатление таково, что клетки клубочковой зоны не слишком разборчивы в отношении стимулирующих их факторов. Они способны реагировать на Ca^{2+}, цАМФ и диацилглицерол+ +Ca^{2+}, синтезируя и секретируя альдостерон в ответ на действие многочисленных вторых посредников, соотношение которых зависит от разнообразных условий. Тем не менее основными посредниками для ангиотензина II служат Ca^{2+} и продукты метаболизма полифосфатидилинозитола.

Ингибиторы секреторной активности клеток клубочковой зоны

К ингибиторам синтеза и секреции альдостерона относятся дофамин, предсердный натриуретический фактор (ПНФ) и Na^+ в высокой концентрации.

О том, что ингибирующий эффект дофамина имеет физиологическое значение, свидетельствуют данные (Aguilera, Catt), согласно которым антагонист дофамина метаклопрамид стимулирует секрецию альдостерона как in vivo, так и in vitro. Механизм ингибирующего действия дофамина на секрецию альдостерона неизвестен.

Предсердный натриуретический фактор представляет собой пептид с высокой диуретической и натриуретической активностью. Его удалось экстрагировать из мышечной ткани предсердий млекопитающих (de Bold). Предсердный натриуретический фактор обычно рассматривают как физиологический антагонист ангиотензина II, поскольку под его влиянием возникает не сужение просвета сосудов и (через стимуляцию секреции альдостерона) задержка натрия, а, наоборот, расширение сосудов и *потеря* соли. Рецепторы предсердного натриуретического фактора обнаружены на клетках не только клубочковой, но и пучковой зоны; и если в первых этот пептид ингибирует секрецию альдостерона в ответ на ангиотензин II, то в последних — выделение кортизола в ответ на АКТГ. Изучение физиологической роли предсердного натриуретического фактора продолжается. Каковы бы ни были результаты, само возникновение опосредованной рецепторами ингибиторной реакции клеток клубочковой зоны на этот фактор указывает на координированную регуляцию сек-

реции альдостерона, т. е. на гомеостатический баланс сользадерживающих и сольтеряющих механизмов.

Высокая внеклеточная концентрация Na^+, которая создается при солевой нагрузке, каким-то образом придает клеткам клубочковой зоны нечувствительность к стимулирующему эффекту ангиотензина II. В опытах in vivo увеличение объема жидкости, вторичное по отношению к задержке Na^+, ингибирует систему на уровне юкстагломерулярных клеток, но существует также и локальное ингибиторное действие на клетки клубочковой зоны. С позиций целесообразности выключение секреции сользадерживающего гормона в условиях избытка соли, несомненно, оправдано.

Гладкая мускулатура

Ангиотензин стимулирует гладкую мускулатуру, особенно в сосудах. Он активнее действует на гладкую мускулатуру артерий и артериол, чем вен. Нет никаких указаний на участие цАМФ в стимулирующем действии ангиотензина на гладкую мускулатуру сосудов. Его эффект связан с повышением $[Ca^{2+}]_ц$, но механизм этого повышения не известен.

Центральная нервная система

С тех пор как Фитцсимонс (Fitzsimons) обнаружил усиленное потребление жидкости под влиянием ангиотензина и приписал ему дипсогенную функцию, накопилось множество данных о том, что этот октапептид, видимо, опосредует возникновение чувства жажды (см. Fregly). Потребление воды очевидным образом сказывается на объеме жидкости в организме; с этой точки зрения вполне рационально, что гормон, который — через стимуляцию секреции альдостерона — восстанавливает объем жидкости при его снижении, способствует тому же эффекту путем стимуляции питьевого поведения. Присутствие в ЦНС ангиотензина, ренина и превращающего фермента делает роль ангиотензина в опосредовании жажды и питьевого поведения весьма вероятной.

Ангиотензин II может стимулировать и «солевой аппетит» у крыс. «Солевой аппетит» оценивают по предпочтительности потребления раствора NaCl или воды при одновременном присутствии обеих жидкостей. После двусторонней адреналэктомии, а также в других условиях, когда крысы предпочитают воде раствор NaCl, несомненно, действует система ренин-ангиотензин-альдостерон. Механизм контроля «солевого аппетита» достаточно сложен (например, альдостерон противодействует стимуляции «предпочтения» под влиянием ангиотензина II). Все

же идея о единой регуляции жажды и «солевого аппетита» — факторов, восстанавливающих объем жидкости, — с позиций целесообразности безусловно привлекательна (Fregly, Rowland).

Механизм действия альдостерона

Альдостерон оказывает три основных эффекта: 1) повышает реабсорбцию Na^+ в почечных канальцах; 2) увеличивает секрецию K^+ и 3) увеличивает секрецию H^+ (протонов).

Эти эффекты чаще всего изучались на почке млекопитающих, но важные данные были получены и в опытах на изолированном мочевом пузыре жабы, который, как оказалось, реагирует на альдостерон точно так же, как канальцевые клетки коркового слоя почки. В опытах Юссинга (Ussing) половинка мочевого пузыря жабы укреплялась между двумя камерами; в этой системе наблюдался транспорт Na^+ (через стенку мочевого пузыря) из среды, омывающей слизистую (моча), в среду, омывающую серозную поверхность пузыря (кровь); при этом количество транспортируемого Na^+ оказалось прямо пропорционально тому току, который нужно приложить к системе, чтобы снять разность потенциалов на мембране, создаваемую перемещением Na^+. Далее было показано, что через 60—90 мин после добавления альдостерона в раствор, омывающий серозную поверхность мочевого пузыря, транспорт Na^+ резко возрастает (Grable). Достоинство данного метода состоит в том, что вторую половинку пузыря можно использовать в качестве контроля. Опыты на мочевом пузыре жабы инспирировали дальнейшие исследования на почечных канальцах.

Альдостерон задерживает Na^+ и приводит к потере K^+ не только в почках и мочевом пузыре жабы, но и в слюнных железах, дистальных отделах толстого кишечника и потовых железах. Как правило, его влияние на почки с количественной стороны весьма существенно, но у человека, который успешно адаптируется к значительной потере Na^+ с потом в условиях жары, повышение секреции альдостерона играет решающую роль в такой адаптации. [Именно этот феномен интересовал Конна (Conn), когда он открыл первичный альдостеронизм.]

Последующее краткое изложение механизмов действия альдостерона основано на результатах многочисленных экспериментов, отличавшихся разнообразными методическими подходами. Кроме упомянутого выше биэлектрического подхода следует указать и на *некоторые* другие: определения *почечного клиренса* и иные методы исследования in vivo; *микроперфузия* почечных канальцев и их отдельных сегментов; *радиоавтография* после добавления меченного тритием альдостерона к почечным

канальцам или мочевому пузырю жабы; *электронная микроскопия* для выявления морфологических реакций на гормональное воздействие; двумерный гель-электрофорез белков и нуклеиновых кислот для анализа чувствительных к альдостерону клеток до и после стимуляции; регистрация *активности ферментов*, а также *скорости их синтеза и распада*; ингибиторный анализ (амилорид, актиномицин D и др.) и т. д.

Клетки мочевого пузыря жабы и нефрона млекопитающих проявляют два типа реакций на альдостерон. Преобладают клетки, запрограммированные в основном на ребсорбцию Na^+ и выведение K^+. Клетки второго типа содержат фермент *карбоангидразу*, катализирующий реакцию

$$CO_2 + H_2O \longrightarrow H^+ + HCO_3^-,$$

и в ответ на действие альдостерона секретируют H^+. Клетки обоих типов способны отвечать на альдостерон при условии непрерывного поступления АТФ; под влиянием альдостерона происходит значительная перестройка их мембраны. Пока не ясно, содержат ли протон-секретирующие клетки H^+-АТФазу только в дополнение к тем механизмам, которые имеются в клетках первого типа, т. е. секретируют ли они протоны просто в силу экспрессии карбоангидразы или они специально предназначены для секреции H^+.

Рецептор альдостерона

Концентрация глюкокортикоидов в крови измеряется в мг%, тогда как альдостерона — в мкг%. Общее количество клеток коры надпочечников, продуцирующих глюкокортикоиды, намного превосходит количество альдостерон-продуцирующих клеток. На основании этого можно было бы предположить, что рецепторы альдостерона должны обладать очень высокой избирательностью. Тем не менее оказалось, что рецепторы стероидов надпочечников (по сравнению с рецепторами эстрогенов и метаболитов витамина D) довольно «неразборчивы» в выборе лиганда.

Описано много различных белков, связывающих стероиды надпочечников: 1) рецепторы глюкокортикоидов типа I (известные также как рецепторы альдостерона); они обнаружены в клетках некоторых областей мозга, специфических дистальных участков почечных канальцев, молочной железы, потовых и слюнных желез, дистальных отделов толстой кишки; 2) рецепторы типа II; они наиболее распространены и изучены подробнее других именно как рецепторы глюкокортикоидов; 3) связывающий кортикостероиды глобулин, или транскортин,

называемый также рецептором типа III, хотя не доказано, что он может функционировать как истинный рецептор, опосредующий биологическую реакцию. Транскортин — белок, выполняющий функцию переносчика глюкокортикоидов, но аналогичный белок обнаружен и в клетках почек (см. ниже).

Классификация указанных выше рецепторов основана на их различной способности связывать лиганды. Рецепторы типа I связывают природные глюкокортикоиды (кортизол, кортикостерон) *или* альдостерон с примерно равным (и высоким) сродством, а также — с меньшим сродством — синтетический глюкокортикоид дексаметазон. Рецепторы типа II обнаруживают умеренное сродство к дексаметазону и гораздо меньшее — к кортизолу и кортикостерону. Транскортин с очень высоким сродством связывает кортизол и практически не связывает альдостерон.

Возникает вопрос: если концентрация глюкокортикоидов в крови в несколько сотен раз превышает концентрацию альдостерона, то каким же образом альдостерон все же влияет на функционирование почечных канальцев? Рецепторы глюкокортикоидов типа II располагаются по всей длине почечного канальца, включая и ту его часть (самый дистальный извитой каналец — собирательный проток), на которую воздействует альдостерон. Однако местоположение рецепторов типа I ограничено лишь реагирующим на альдостерон участком. Согласно наиболее вероятной современной гипотезе, альдостерон, несмотря на свою низкую концентрацию, может взаимодействовать с рецепторами типа I в чувствительных к нему клетках потому, что последние содержат связывающий белок (иногда называемый рецептором типа III), неотличимый от транскортина крови. Эта внутриклеточная «молекулярная губка», которая находится в тех же клетках почечного канальца, что и рецепторы типа I, вбирает в себя проникающие в клетку глюкокортикоиды, но не альдостерон, оставляя ему тем самым возможность успешно конкурировать за рецептор, обладающий одинаковым сродством к стероидам надпочечников обоих типов. При очень высокой концентрации глюкокортикоидов в крови буферная емкость внутриклеточного рецептора типа III может оказаться недостаточной и «альдостероновый» рецептор будет связывать глюкокортикоиды, которые в данном случае имитируют эффект альдостерона. Прогестерон и спиронолактоны тоже связываются с рецепторами типа I, но препятствуют их трансформации в биологически активную форму. Поэтому они действуют как *анти*альдостероны, или натриуретические агенты.

Подобно другим стероидным гормонам, альдостерон усиливает в клетках-мишенях синтез небольшого числа мРНК (вероятно, не более шести). В то же время с помощью дву-

мерного гель-электрофореза после воздействия альдостерона в клетке *уменьшается* количество некоторых белков. Небольшое число индуцируемых белков и гетерогенность клеток в тех органах, где альдостерон осуществляет свой основной эффект, препятствовали развитию молекулярно-биологических исследований и работ по клонированию генов, широко проводившихся при изучении других стероидных гормонов.

Принимая, что альдостерон активирует гены лишь немногих белков, можем ли мы идентифицировать эти белки? С достоверностью этого сделать нельзя, но на роль индуцируемых альдостероном белков существует ряд кандидатов.

Белки, синтез которых мог бы индуцироваться альдостероном

На рис. 12-5 представлена схема действия альдостерона на клетку, через которую происходит транспорт Na^+, независимо от того, где она находится — в почечном канальце или в мочевом пузыре жабы. На рисунке показана знакомая схема стимуляции синтеза РНК гормон-рецепторным комплексом. Na^+ поступает в клетку через специфические натриевые каналы (с помощью переносчика пермеазы), расположенные на ее люминальной стороне. Двигаясь в клетке по градиенту концентрации, Na^+ на противоположной (контрлюминальной) ее стороне откачивается Na^+, K^+-АТФазой, которая для своей работы требует поступления АТФ из митохондрий. Альдостерон влияет не только на синтез белков, но и на состав мембранных фосфолипидов. Теоретически транспорт Na^+ мог бы усиливаться в результате изменения активности пермеазы, работы продуцирующего энергию механизма или натриевого насоса. (Приведенные ниже цифры в скобках относятся к рис. 12-5.)

Имеются надежные данные о повышении количества пермеазы на люминальной мембране под действием альдостерона. Вывод основан на опытах с амилоридом — веществом, избирательно связывающимся с переносчиком Na^+; в присутствии альдостерона его связывание возрастает, что свидетельствует об увеличении количества переносчиков на поверхности клеток (Cuthbert, Shum). Однако влияние гормона на *количество* пермеазы не может быть *первичным*, поскольку повышение транспорта Na^+ через клетку регистрируется *раньше* увеличения числа мембранных переносчиков.

Отсюда следует, по-видимому, что наиболее ранний из регистрируемых эффектов альдостерона заключается в активации предсуществующих переносчиков Na^+. После того как Гудман и др. (Goodman et al.) обнаружили влияние альдостерона

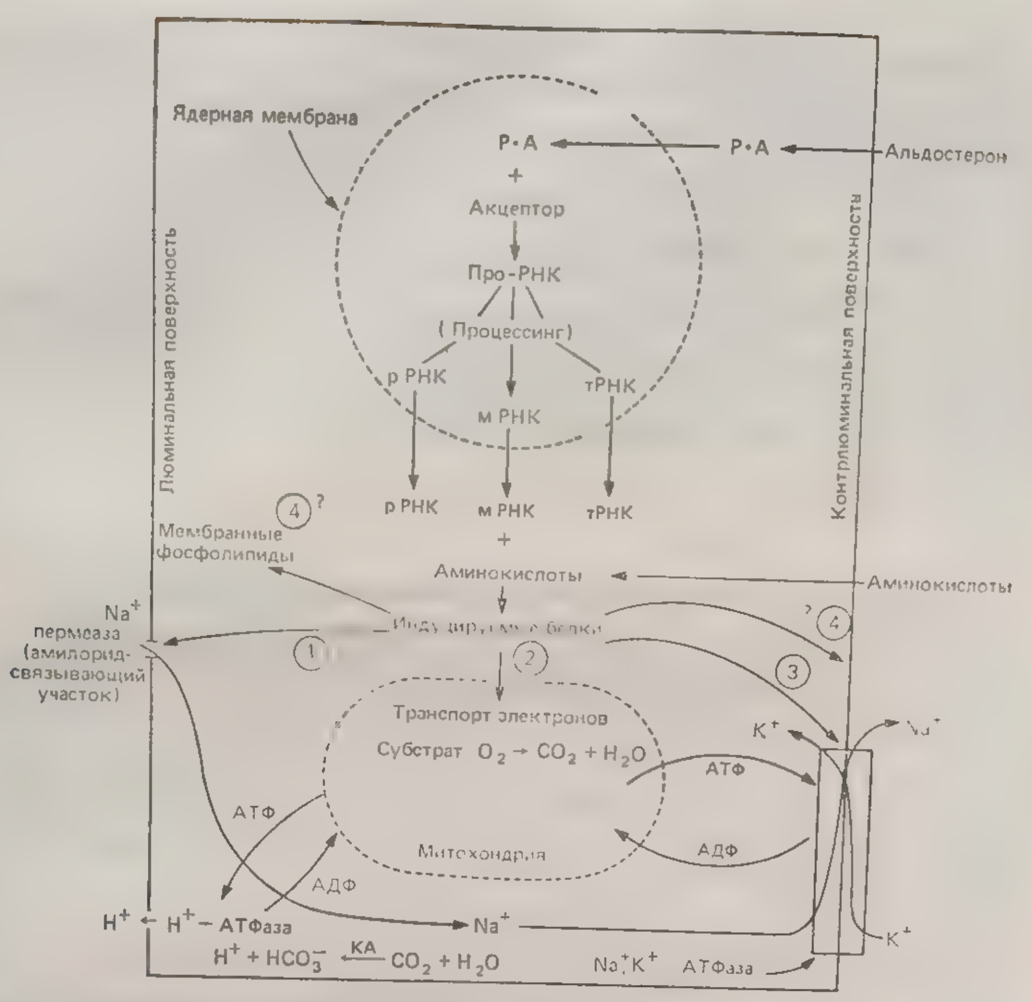


Рис. 12-5. Суммированные представления о механизме действия альдостерона. А — альдостерон; Р — рецептор; рРНК — рибосомная РНК; мРНК — информационная (матричная) РНК; тРНК — транспортная РНК; КА — карбоангидраза. В некоторых чувствительных к альдостерону клетках обнаружена система «откачки» H^+ (протонный насос).

на отношение фосфатидилхолин/фосфатидилэтаноламин в мембранах клеток-мишеней (4), Визман и др. (Wiesmann et al.) показали, что альдостерон стимулирует реакции метилирования, участвующие в синтезе фосфатидилхолина, а также реакции карбоксиметилирования белков. При этом оказалось, что добавление к альдостерон-чувствительным клеткам донора метильных групп (S-аденозилметионина) стимулирует транспорт Na^+, а ингибиторы трансметилирования препятствуют действию альдостерона на транспорт Na^+. Молекулярные механизмы, обеспечивающие взаимосвязь метилирования с активацией переносчика Na^+, остаются сугубо предположительными; все же приведенные данные свидетельствуют о возможном влиянии альдостерона на синтез белков, не принадлежащих, вероятно,

к компонентам самой пермеазы, но способствующих перестройке мембраны и повышению эффективности работы переносчика.

(2) Усиленный транспорт Na^+ должен обеспечиваться энергией, т. е. сопровождаться активацией окисления субстратов. Действительно, Кирстен и др. (Kirsten et al.) показали, что у крыс через несколько суток после адреналэктомии резко (на 50%) снижается активность митохондриальной цитратсинтазы, а альдостерон уже через три часа после введения восстанавливает нормальную активность фермента. В мочевом пузыре жабы активность цитратсинтазы и трансэпителиальный перенос Na^+ изменяются параллельно, причем индукцию цитратсинтазы и связанных с ней митохондриальных ферментов предотвращает ингибитор синтеза РНК. О том, что индукция этого фермента не является феноменом, вторичным по отношению к возрастанию потока Na^+ через клетку, свидетельствует сохранение способности альдостерона индуцировать цитратсинтазу даже в условиях блокады транспорта Na^+ амилоридом.

Под действием альдостерона и в почке, и в мочевом пузыре жабы синтезируются и встраиваются в контрлюминальную мембрану новые молекулы Na^+, K^+-АТФазы. Это относительно поздняя реакция на альдостерон, но она необходима для поддержания его эффекта. Таким образом, старый спор о том, что первично — увеличение мощности натриевого насоса или возрастание притока Na^+ — в настоящее время решается таким образом: вначале увеличивается перенос Na^+ через клетку, но индукция синтеза Na^+, K^+-АТФазы может происходить даже в условиях блокады транспорта Na^+ амилоридом.

Механизм действия альдостерона на протон-секретирующие клетки почек и мочевого пузыря жабы изучен недостаточно, что связано, конечно, с большими методическими трудностями. Но исходя из того, что известно об ответе на альдостерон Na^+-транспортирующих клеток, можно с уверенностью предположить, что и в данном случае ход событий приводит в конце концов к перестройке мембраны, активации протонового насоса и повышению синтеза АТФ.

Один из аспектов действия альдостерона смущает исследователей в течение многих лет. Целый ряд данных указывает на то, что эффекты альдостерона на реабсорбцию Na^+ и секрецию K^+ можно отделить друг от друга и что эти эффекты опосредованы разными механизмами. С другой стороны, в более поздних работах подчеркивается координированность проявления этих эффектов и высказывается предположение, что действие на секрецию K^+ связано с первичным действием на транспорт Na^+. Аргументы сторонников обеих точек зрения рассматриваются в обзоре Марвера (Marver, 1985).

Фармакология системы ренин — ангиотензин — альдостерон

Если известна структура сложной регуляторной системы, то с помощью фармакологических средств можно модифицировать ее работу. В некоторых случаях вмешательство осуществляется преднамеренно и на благо больного, в других же возможно повреждение системы как нежелательный побочный результат применения каких-либо препаратов.

Клетки печени служат источником субстрата ренина — прогормона ангиотензинов. Он представляет собой глобулин, который, подобно другим секретируемым печенью глобулинам, (кортизол-связывающему, связывающему половые стероиды) выделяется в большом количестве под действием эндо- или экзогенных эстрогенов. Хотя количество прогормона (субстрата ренина) в обычных условиях не ограничивает скорость образования гормона, все же повышение концентрации этого субстрата может обусловить продукцию неадекватно высоких количеств ангиотензина и тем самым стимулировать клубочковую зону коры надпочечников. Почти у всех беременных женщин наблюдается легкое повышение артериального давления, а у некоторых (вероятно, с врожденной предрасположенностью к гипертонии) — существенное его повышение с восстановлением исходного уровня после родов. Пероральные эстроген-содержащие контрацептивные препараты, эстрогенная терапия в постменопаузе и фармакологические количества глюкокортикоидов тоже могут повышать концентрацию субстрата ренина. При тяжелых поражениях печени или недостаточности коры надпочечников концентрация субстрата ренина в плазме обычно снижена.

Юкстагломерулярные секреторные клетки содержат капле-видные включения ренина. Они реагируют на разнообразные ионные, гуморальные, паракринные и нервные сигналы и потому служат объектом фармакологического вмешательства при неадекватно высокой продукции и секреции ренина. Агонисты β-адренорецепторов стимулируют юкстагломерулярные клетки, а β-блокаторы (например, пропранолол) тормозят их секреторную активность. На этом свойстве пропранолола основано его применение для диагностики и лечения гипертонии, обусловленной избытком ренина. Стимулятором секреции ренина служит и простациклин, причем имеются некоторые данные о том, что ингибитор синтеза простациклина — индометацин — снижает продукцию ренина при его гиперсекреции, например при синдроме Барттера (гиперплазия юкстагломерулярных клеток). Одним из примеров тесной функциональной связи между дополняющими друг друга системами гипоталамус—гипофиз—

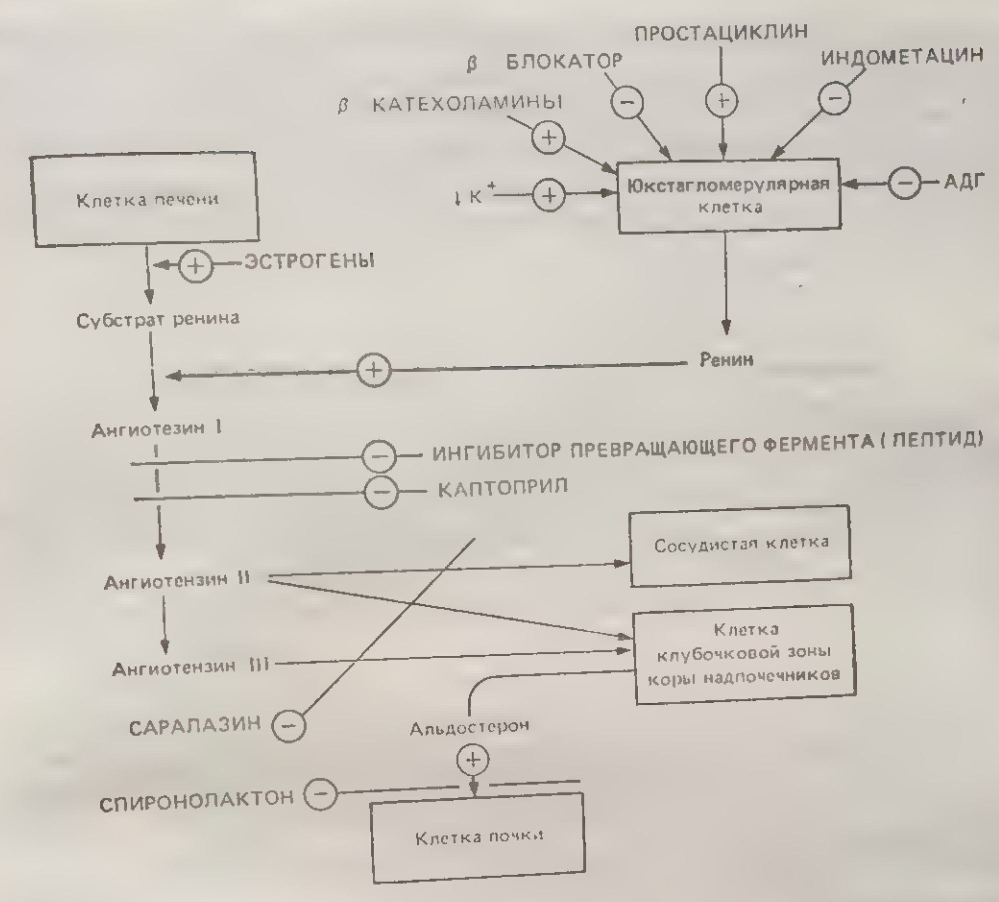


Рис. 12-6. Взаимодействие компонентов системы ренин-ангиотензин-альдостерон.

АДГ и ренин-ангиотензин-альдостерон может служить ингибиторное влияние АДГ на выброс ренина.

Поскольку ангиотензин I биологически неактивен, эффект избыточной продукции ренина можно нейтрализовать, *препятствуя синтезу ангиотензина II под действием превращающего фермента*. Описаны обладающие таким эффектом пептиды (рис. 12-6). Они используются в диагностике для выяснения роли рениновой системы в патогенезе гипертонии у отдельных больных. Ондетти и др. (Ondetti et al.) предложили пептидные ингибиторы превращающего фермента, которые оказались эффективными при пероральном приеме. Доказано значение этих средств в лечении гипертонии (см. Gavras et al.).

Как возможное диагностическое средство широко изучался и *саралазин*. Он связывается с рецепторами ангиотензинов II и III на плазматической мембране, но не способен инициировать биологическую реакцию. Поэтому саралазин конкурентно ингибирует стимулирующее действие ангиотензинов на клетки кровеносных сосудов и клубочковой зоны надпочечников.

Наконец, структурные аналоги альдостерона — *спиронолактоны* — конкурируют с альдостероном за рецепторы в клетках почечных канальцев и других чувствительных к этому гормону клетках. Спиронолактоны (например, альдактон) эффективны при пероральном приеме, и их действие длится несколько часов. Именно поэтому они нашли широкое применение в терапии отечных состояний.

Первичный и вторичный гиперальдостеронизм

Неадекватная секреция альдостерона имеет место при ряде заболеваний, объединяемых термином синдром Конна (первичный гиперальдостеронизм). Избыточная секреция этого гормона наблюдается у лиц с альдостерон-продуцирующими опухолями или с диффузно гиперплазированными надпочечниками. Повышенная продукция альдостерона сопровождается гипертонией (часто легкой), потерей калия, задержкой натрия и почти полным исчезновением активности ренина в плазме.

Подобно секреции глюкокортикоидов, секреция альдостерона подчиняется суточному ритму. У лежащего человека колебания уровня альдостерона в крови соответствуют таковым кортизола: пик регистрируется рано утром. Однако в случае альдостерона на базальный ритм накладывается эффект позы, изменяющий скорость секреции гормона. У здорового человека, поменявшего лежачее положение на стоячее и остающегося в этом положении четыре часа, отмечается возрастание концентрации альдостерона в плазме крови в 2—4 раза. Это отчетливо связано с функционированием ренин-ангиотензиновой системы.

С другой стороны, у больного с автономно функционирующей опухолью, вырабатывающей альдостерон, и полностью нефункционирующей ренин-ангиотензиновой системой может наблюдаться парадоксальное *падение* концентрации альдостерона в плазме в ответ на ортостаз.

По изменению концентрации альдостерона в ответ на перемену позы судят о надежности ренин-ангиотензиновой системы. Если человек принимает вертикальное положение, то происходит отток жидкости к ногам, и юкстагломерулярный аппарат воспринимает это как снижение «эффективного» объема крови.

При многих клинических состояниях; особенно характеризующихся накоплением отечной жидкости (например, при циррозе печени, сердечной недостаточности), отмечена гиперпродукция альдостерона (вторичный гиперальдостеронизм). Это, конечно, ухудшает положение больного, способствуя сохране-

нию отеков за счет задержки натрия. Как и при увеличении секреции альдостерона в ответ на перемену позы у здоровых людей, в случае отеков, несмотря на избыток жидкости в организме, может возникать сигнал о снижении воспринимаемого объема крови, на который автоматически срабатывает юкстагломерулярный аппарат. Таким образом, если не прервать этот порочный круг усилением экскреции и ограничением приема натрия, накопление отечной жидкости будет только прогрессировать. Описанная ситуация служит примером «нормальной» реакции регулируемого параметра на ложный сигнал.

При вторичном гиперальдостеронизме, связанном с тяжелым поражением печени, может иметь место не только неадекватная гиперпродукция альдостерона, но и нарушение способности печени к превращению его в тетрагидроформу, что необходимо для последующей его экскреции из организма. В таких условиях задержка соли определяется сочетанием гиперпродукции и замедления инактивации главного минералокортикоида.

Роль системы ренин — ангиотензин — альдостерон при гипертонии

Одно время «анемия» считалась заболеванием. Теперь же ясно, что анемия — это симптом многих заболеваний. Точно так же высокое артериальное давление, или гипертония, не означает ничего иного, как хроническое повышение артериального давления выше эмпирически установленной нормы. Поскольку регуляция артериального давления крайне сложна, нет ничего удивительного в том, что гипертонию могут вызвать нарушения различных звеньев механизма поддержания давления.

Некоторые из основных факторов, определяющих способность организма поддерживать артериальное давление в пределах нормы, перечислены ниже.

1. Симпатическая нервная система, в частности через катехоламины.
2. Локально продуцируемые простагландины.
3. Сосудорасширяющие вещества (например, брадикинин).
4. Потребление соли.
5. Экскреция натрия почками.
6. *Система ренин-ангиотензин-альдостерон.*

Лечение гипертонии существенно увеличивает ожидаемую продолжительность жизни лиц с повышенным артериальным давлением, и совершенствование этого лечения чрезвычайно важно. Поскольку нелеченая гипертония статистически значи-

мо коррелирует с частотой инсультов, ишемической болезни сердца, застойной сердечной недостаточности, поражений сетчатки глаза, болезни почек и расслаивающей аневризмы аорты, совершенно очевидна и необходимость лучшего понимания причин различных видов гипертонии.

У относительно небольшого числа больных (10—15%) гипертония излечима. У одних она связана с *феохромоцитомой*, или катехоламин-продуцирующей опухолью (см. гл. 13), у других — с двумя видами нарушений непосредственно в ренин-альдостероновой системе:

1. *Первичный альдостеронизм*, обусловленный неадекватной и неингибируемой продукцией альдостерона либо опухолью надпочечников, либо диффузно гиперплазированными надпочечниками. Как уже отмечалось, такие состояния характеризуются высокой скоростью продукции альдостерона и низкими уровнями ренина и ангиотензина.

2. *Реноваскулярная гипертония*, возникающая вследствие недостаточного кровоснабжения одной почки при нормальном функционировании другой. В этом случае для диагностики и выработки стратегии терапии полезно проводить определения ренина в почечных венах с каждой стороны. В благоприятных условиях удаление ишемической почки может ликвидировать гипертонию.

Если в 10—15% случаев гипертония поддается коррекции, то 85—90% случаев составляют категорию «эссенциальной» гипертонии, или собственно гипертонической болезни. Однако это огромное большинство больных гипертонией не составляет однородную группу. Именно в этой группе анализ состояния ренин-ангиотензиновой системы может способствовать успешному лечению.

Лара и др. (Laragh et al.), Стритен и др. (Streeten et al.), а также другие группы исследователей разработали методы классификации больных гипертонией в соответствии с состоянием их рениновой системы. В настоящее время известно, что в любой крупной популяции больных гипертонией имеется группа с высоким уровнем ренина в крови, группа с нормальным и группа с низким его уровнем. Метод анализа, разработанный Лара и др., напоминает подход, который мы уже обсуждали в связи с синдромом неадекватной секреции АДГ, когда подчеркивалось, что уровень гормона оказывается информативным только при одновременном определении регулируемого этим гормоном параметра. На рис. 12-7 показаны две коррелятивные зависимости: 1) между экскрецией натрия с мочой и активностью ренина плазмы и 2) между экскрецией натрия и альдостерона с мочой. У больных А и Б уровень ренина в плазме одинаков, но у Б имеет место гиперренинемия, поскольку

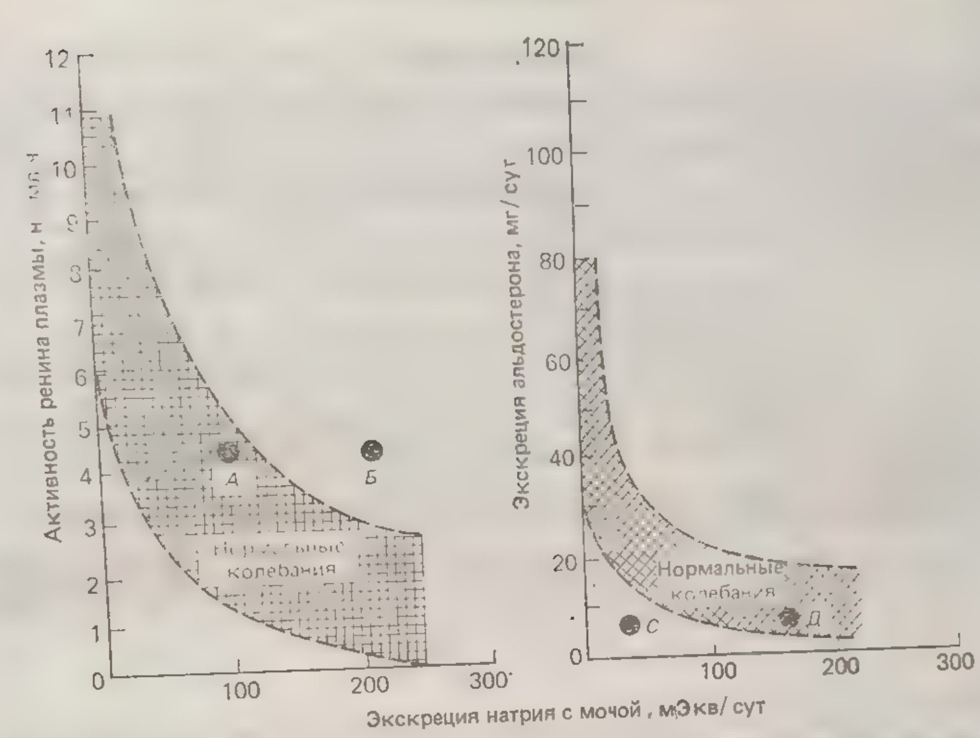


Рис. 12-7. Активность ренина плазмы и экскреция альдостерона, сопряженная с экскрецией натрия с мочой у больных А, Б, С и Д. (По Laragh J. H., Sealey J. E. (1975). Cardiovasc. Med., 2, 1053.)

при данной экскреции натрия с мочой уровень ренина неадекватно высок. Точно так же у больного С скорость экскреции альдостерона не достигает нормы в сопоставлении с экскрецией натрия.

В каждом случае определения ренина необходимо учитывать и экскрецию натрия — только такой подход может способствовать рациональному лечению. В любой популяции больных гипертонией уровень ренина колеблется от очень высокого (у 15% больных) до низкого (у 30%), т. е. гиперсекреция ренина необязательна для поддержания высокого артериального давления. У большинства больных (55%) избыток ренина колеблется (от весьма значительного до небольшого).

В целом «высокорениновая» гипертония поддается лечению β-блокирующими средствами, такими, как пропранолол, тогда как при «низкорениновой» улучшения можно добиться путем ограничения соли в пище и приема диуретиков. Более того, «высокорениновая» группа включает и больных с почечной гипертонией, которых можно идентифицировать путем сопоставления уровня ренина в правой и левой почечных венах (с помощью катетеризации) и гипертония которых поддается радикальному излечению.

Литература[1]

Aguilera G., Catt K. J. (1984). Dopaminergic modulation of aldosterone secretion in the rat, Endocrinology, **114**, 179.

Bartter F. C., Gill J. R., Froehlich J. C. et al. (1976). Prostaglandins are overproduced by the kidneys and mediate hyperreninemia in Bartter's syndrome, Trans. Assoc. Am. Physicians., **89**, 77.

Baxter J. D., Tyrrell J. B. (1981). The adrenal cortex. In: Felig P., Baxter J. D., Broadus A. E. et al. (eds.), Endocrinology and Metabolism, New York, McGraw-Hill Book Co., pp. 285—510.

Biglieri E. G., Baxter J. D. (1981). The endocrinology of hypertension. In: Felig P., Baxter J. D., Broadus A. E. et al. (eds.), Endocrinology and Metabolism, New York, McGraw-Hill Book Co., pp. 551—598.

Cuthbert A. W., Shum W. K. (1975). Effects of vasopressin and aldosterone on amiloride binding in toad bladder epithelial cells, Proc. R. Soc. Lond. (Biol.), **189**, 543.

De Bold A. J. (1985). Atrial natriuretic factor: A hormone produced by the heart, Science, **230**, 767.

De Léan A., Racz K., Gutkowska J. et al. (1984). Specific receptor-mediated inhibition by synthesis atrial natriuretic factor of hormone-stimulated steroidogenesis in cultured-bovin adrenal cells. Endocrinology, **115**, 1636.

Devynck M.-A., Pernollet M. G., Matthews P. G. et al. (1977). Specific receptors for des-Asp[1]-angiotensin II («Angiotensin III») in rat adrenals, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **74**, 4029.

Enyedi P., Büki B., Mucsi I. et al. (1985). Polyphosphoinositide metabolism in adrenal glomerulosa cells, Mol. Cell. Endocrinol., **41**, 105.

Fregly M. J. (ed.) (1978). Angiotensin-induced thirst: Peripheral and central mechanisms (symposium). Fed. Proc., **37**, 2667.

Fregly M. J., Rowland N. E. (1985). Role of renin-angiotensin-aldosterone system in NaCl appetite of rats, Am. J. Physiol., **248** (Reg. Integ. Comp. Physiol., 17), R1

Funder J. W. (1985). On mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. In: Anderson D. C., Winter J. S. D. (eds.), Adrenal Cortex, London, Butterworths, pp. 86—95.

Geering K., Claire M., Gaeggeler H.-P. et al. (1985). Receptor occupancy vs induction of Na^+, K^+ ATPase and Na^+ transport by aldosterone, Am. J. Physiol., 248 (Cell. Physiol., 17), C102.

Gibbons G. H., Dzau V. J., Farhi E. R. et al. (1984). Interaction of signals influencing renin release, Ann. Rev. Physiol., **46**, 291.

Gilman A. G., Goodman L. S., Rall T. W. et al. (eds.) (1985). The Pharmacological Basis of Therapeutics, ed. 7, New York, Macmillan Publishing Co.

Goodman D. B. P., Wong M., Rasmussen H. (1975). Aldosterone-induced membrane phospholipid metabolism in toad urinary bladder, Biochemistry, **14**, 2803.

Horisberger J.-D., Diezi J. (1984). Inhibition of aldosterone-induced anti-natriuresis and kaliuresis by Actinomycin D, Am J. Physiol., **246** (Renal. Fluid Electrolyte Physiol., 15), F201.

Kinne R. K. H. (ed.) (1985). Renal Biochemistry: Cells, Membranes, Molecules, New York, Elsevier North-Holland, Inc.

Kirsten E., Kirsten R., Sharp G. W. G. (1970). Effects of sodium transport stimulating substances on enzyme activities in the toad bladder, Pfluegers Arch., **316**, 26.

Kojima I., Kojima K., Rasmussen H. (1985). Characteristic of angiotensin II-, K^+-, and ACTH-induced calcium influx in adrenal glomerulosa cells, J. Biol. Chem., **260**, 9171.

[1] См. примечание на с. 40.

Kojima I., Kojima K., Rasmussen H. (1985). Role of calcium fluxes in the sustained phase of angiotensin II-mediated aldosterone secretion from adrenal glomerulosa cells, J. Biol. Chem., **260**, 9177.

Laragh J. H., Sealey J. E. (1975). Renin-sodium profiling: How, when, why in clinical practice, Cardiovasc. Med., **2**, 1053.

Leitersdorf E., Stein O., Stein Y. (1985). Angiotensin II stimulates receptor-mediated uptake of LDL by bovine adrenal cortical cells in primary culture, Biochim. Biophys. Acta., **835**, 183.

Lewis S. A. (1983). Control of Na^{+} and water absorption across vertebrate «tight» epithelia by ADH and aldosterone, J. Exp. Biol., **106**, 9.

Ludens J. H., Fanestil D. D. (1974). Aldosterone stimulation of acidification on urine by the isolated urinary bladder of the Columbian toad, Am. J. Physiol., **226**, 1321.

Marver D., Kokko J. P. (1983). Renal target sites and the mechanism of action of aldosterone, Miner. Electrolyte Metab., **9**, 1.

Marver D. (1985). The mineralocorticoid receptor. In: Litwack G. (ed.). Biochemical Actions of Hormones, vol. 12, New York, Academic Press, pp. 386—431.

Oates J. A., Whorton A. R., Gerkens J. F. et al. (1979). The participation of prostaglandins in the control of renin release, Fed. Proc., **38**, 72.

Ondetti M. A., Rubin B. M., Cushman D. W. (1977). Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: New class of orally active Antihypertensive agents, Science, **196**, 441.

Re R. N. (1984). Cellular biology of the renin-angiotensin systems, Arch. Intern. Med., **144**, 2037.

Reid I. A. (1985). The renin-angiotensin system and body function, Arch. Intern. Med., **145**, 1465.

Rossier B. C., Paccolat M. P., Verrey F. et al. (1985). Mechanism of action of aldosterone: A pleiotropic response, Horm. Cell Reg., **9**, 209.

Schmidt U., Schmid J., Schmid H. et al. (1975). Sodium and protassium-activated ATPase, a possible target of aldosterone, J. Clin. Invest., **55**, 655.

Stone D. K., Kokko J. P., Jacobson H. R. (1982). In vitro stimulation of proton secretion by aldosterone, Kidney Int., **21**, 240.

Streeten D. H., Anderson G. H., Freiberg J. M. (1975). Use of an angiotensin II antagonist (saralasin) in the recognition of «angiotensinogenic» hypertension, N. Engl. J Med., **292**, 657.

Wiesman W. P., Johnson J. P., Miura G. A. et al. (1985). Aldosterone-stimulated transmethylations are linked to sodium transport, Am. J. Physiol., 248 (Renal. Fluid Electrolyte Physiol., 17), F43.

Глава 13

Катехоламины

Некоторые хронологические вехи в изучении мозгового слоя надпочечников

Дата		Исследователи
1611	Впервые описаны надпочечники (без выделения мозгового слоя)	Бартолий (Bartholinus)
1811	Описан мозговой слой надпочечников	Кювье (Cuvier)

1856	Обнаружено, что надпочечники окрашиваются хлоридом железа в зеленый цвет	Вульпиан (Vulpian)
1895	Обнаружено, что введение экстракта надпочечников вызывает повышение артериального давления	Шишмонович, Цыбульски (Syzmonowicz, Cybulski);
1899	Выявлено сходство эффектов экстракта надпочечников и стимуляции симпатических нервов	Левандовский (Lewandowsky)
1900	Клетки, окрашивающиеся хромом в желто-коричневый цвет, названы хромаффинными	Кон (Kohn)
1900 и далее	Выделен, очищен, идентифицирован и синтезирован адреналин	Абель (Abel); фон Фурт (von Furth); Такамине (Takamine)
1901	Показано, что экстракт надпочечников сохраняет биологическую активность и после симпатической денервации	Ленгли (Langley)
1904	Впервые сформулирована нейрогуморальная теория нервной передачи; постулировано, что симпатическим медиатором является адреналин	Эллиот (Elliot)
1904—1905	Осуществлен синтез адреналина	Штольц (Stolz); Дейкин (Dakin)
1910	Осуществлен синтез норадреналина	Баргер, Дейл (Barger, Dale)
1921 и далее	Установлена роль адреналиноподобного вещества в качестве нейрогуморального медиатора	Лёви (Loewi); Кеннон (Cannon)
1929	Высказано предположение, что катехоламины необходимы для проявления реакции «борьбы и бегства»	Кеннон (Cannon)
1931	Суммированы метаболические эффекты адреналина	Кори (Cori)
1939	Установлен путь биосинтеза катехоламинов	Блашко (Blaschko)
1948	Описаны альфа- и бета-рецепторы катехоламинов	Алквист (Ahlquist)
1951	Доказана идентичность норадреналина и симпатического гуморального медиатора	фон Эйлер (von Euler)

Адреналин оказался первым гормоном, который удалось химически идентифицировать и синтезировать. Изучение гликогенолитического эффекта адреналина привело к открытию цАМФ. На основе исследований секреторной активности мозгового слоя надпочечников возникли многие современные представления о сопряжении стимула и секреции в клетках, запасающих гормоны в окруженных мембраной гранулах. Исследования рецепторов катехоламинов и анализ действия веществ, блокирующих эти рецепторы, внесли существенный вклад в теорию механизма действия гормонов. Практическое применение этих экспериментальных данных обусловило успехи терапии таких заболеваний, как гипертония, гипертиреоз, ишемиче-

ская болезнь сердца, аллергические состояния и бронхиальная астма.

Подобно задней доле гипофиза, мозговой слой надпочечников представляет собой производное нервной ткани. Его можно рассматривать как специализированный симпатический ганглий, иннервируемый длинным преганглионарным холинергическим нейроном, который образует синаптические контакты с хромаффинными клетками. При стимуляции преганглионарного нейрона хромаффинные клетки выбрасывают содержимое своих секреторных гранул непосредственно в кровь.

Хотя и хромаффинные клетки надпочечников и адренергические постганглионарные нейроны стимулируются преганглионарными волокнами сходным образом, однако хромафинные клетки у большинства видов секретируют в основном адреналин и только в меньшей степени норадреналин (10—50% в зависимости от вида животного); имеющийся в организме норадреналин — это в основном нейромедиатор центральной и автономной нервной системы.

Симпатическому, или адренергическому, отделу автономной нервной системы свойственны две главные особенности: 1) он предназначен для быстрого реагирования, и его медиаторы инактивируются или захватываются пресинаптическими нервными окончаниями очень быстро после высвобождения; 2) катехоламиновый химический сигнал тревоги воспринимается во всем организме. Один преганглионарный нейрон может образовывать синаптические контакты с 25 000 постганглионарных нейронов. Симпатическая нервная система включается в самых разнообразных обстоятельствах — от почти незаметных, легких колебаний равновесных состояний в органах и системах до угрожающих жизни критических ситуаций. Мозговой слой надпочечников реагирует на многие (но не на все) стрессорные воздействия.

Симпатическая нервная система и мозговой слой надпочечников не всегда реагируют параллельно: каждый вид стресса имеет свои особенности. Симпатическая нервная система играет особо важную роль в реакциях на охлаждение, физическую нагрузку (у человека) и ортостатическую гипотензию. Секрецию адреналина вызывают тревожные состояния или психические нагрузки у человека, гипоксия и, что имеет особое значение, гипогликемия. Более того, при голодании секреторная активность мозгового слоя надпочечников возрастает (выделяется главным образом адреналин), а активность симпатической нервной системы (которая в основном определяет термогенез) снижается. Это вполне оправданно, поскольку адреналин способствует поддержанию уровня глюкозы в крови, а снижение тонического термогенного влияния сохраняет необходимые ка-

лории. Отсюда следует важный вывод: нервная система организована таким образом, что отдельные компоненты ее симпатического отдела (в том числе и ответственные за регуляцию секреторной активности хромаффинных клеток надпочечников) могут включаться и вместе (как единое целое), и порознь в любой нужной комбинации.

При обсуждении проблемы стресса в гл. 11 мы подчеркивали, что реакция на стресс опосредована взаимодействием между катехоламинами, АКТГ и глюкокортикоидами надпочечников, системой ренин-ангиотензин-альдостерон и АДГ. Катехоламины — норадреналин и адреналин — можно рассматривать как первую линию защиты. Остальные перечисленные факторы обеспечивают бо́льшую длительность защитной реакции.

Биосинтез катехоламинов

Схема биосинтеза катехоламинов (рис. 13-1) впервые была предложена Блашко (Blaschko) в 1939 г. Тирозин превращается в 3,4-дигидроксифенилаланин (ДОФА), который декарбоксилируется с образованием дофамина. Дофамин проникает в хромаффинные гранулы, где окисляется в норадреналин дофа-

Тирозин: HO–C₆H₄–$CH_2-CH(NH_2)-COOH$

↓

ДОФА: (HO)₂C₆H₃–$CH_2-CH(NH_2)-COOH$

↓ (Цитоплазма

Дофамин: (HO)₂C₆H₃–$CH_2-CH_2-NH_2$

↓ (Хромаффинные гранулы

Норадреналин: (HO)₂C₆H₃–$CH(OH)-CH_2-NH_2$

↓ (Цитоплазма

Адреналин: (HO)₂C₆H₃–$CH(OH)-CH_2-N(H)-CH_3$

Рис. 13-1. Синтез катехоламинов.

мин-β-гидроксилазой. Затем образовавшийся норадреналин возвращается в цитозоль и подвергается метилированию под действием фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы, превращаясь в адреналин. Далее адреналин вновь поступает в хромаффинные гранулы и запасается для секреции. Три соединения этого ряда обладают биологической активностью либо гормона (адреналин), либо нейромедиатора (норадреналин, дофамин).

Ферменты биосинтеза катехоламинов хорошо изучены. *Тирозингидроксилаза* требует присутствия молекулярного O_2, тетрагидроптеридина и НАДФ·Н или НАДФ·Н-генерирующей системы. Этот фермент катализирует реакцию, лимитирующую скоростью всего процесса, и его ингибирует по механизму обратной связи один из конечных продуктов — норадреналин (рис. 13-2). *ДОФА-декарбоксилаза*, по-видимому, присутствует в таком избытке, что функционирует при любой скорости синтеза катехоламинов в железé. *Дофамин-β-гидроксилаза* обнаруживается только в гранулах; очищенные препараты содержат 2 М Cu^{2+} на моль фермента. Фенилэтаноламин-N-метилтрансфераза в основном присутствует в мозговом слое надпочечников, хотя очень небольшие ее количества могут быть связаны с нервными окончаниями. В качестве донора метильных групп фермент использует S-аденозилметионин.

Регуляция биосинтеза катехоламинов

Образование катехоламинов как в мозговом слое надпочечников, так и в симпатических нервах регулируется двумя способами, в зависимости от срока действия регулятора:

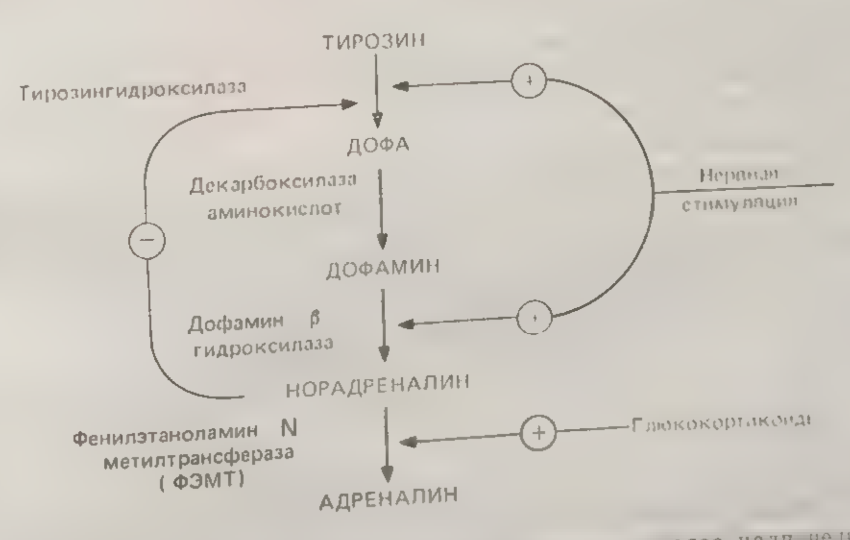


Рис. 13-2. Регуляция синтеза катехоламинов в мозговом слое надпочечников. (По Axelrod J., Weinshilboum R. (1972). N. Engl. J. Med., 287, 257, с модификациями.)

1) быстрая или кратковременная регуляция (без изменения количества молекул ферментов) и 2) *хроническая* стимуляция (с образованием и появлением большего количества молекул этих ферментов).

Кратковременная регуляция осуществляется главным образом на том этапе биосинтеза, который ограничивает скорость всего процесса и катализируется тирозингидроксилазой. В результате стимуляции со стороны нервной системы, во-первых, возрастает секреция гормона путем экзоцитоза и, во-вторых, увеличивается скорость образования катехоламинов из легко доступного тирозина. Тирозингидроксилаза существует в двух формах: неактивной и активной. Нервная стимуляция приводит к резкому увеличению доли активированных молекул фермента. Молекулярный механизм активации тирозингидроксилазы изучен недостаточно, несмотря на значительное число работ в этой области. цАМФ-зависимая протеинкиназа способна фосфорилировать тирозингидроксилазу, но едва ли это происходит в физиологических условиях, судя по тому, что ацетилхолин (главный стимулятор хромаффинных клеток) является ингибитором аденилатциклазы в ряде тканей, а цАМФ не стимулирует секрецию катехоламинов. Можно лишь предположить, что активация тирозингидроксилазы действительно связана с ее фосфорилированием, но это происходит под влиянием не цАМФ-зависимой, а, вероятно, Ca_4-кальмодулин-зависимой киназы. Экспериментальные доказательства такого предположения, по-видимому, отсутствуют.

Хроническая стимуляция (в течение 12 ч и более) приводит к избирательной индукции тирозингидроксилазы с помощью механизма, обеспечивающего транскрипцию генов и синтез белка. Параллельно индукции тирозингидроксилазы при длительной стимуляции происходит менее выраженная индукция синтеза и дофамин-β-гидроксилазы.

Корковый и мозговой слой надпочечников связаны не только анатомически, но и функционально. Кровь из синусоидов коркового слоя, прежде чем попасть в системный кровоток, проходит через мозговой слой и перфузирует его. Поэтому хромаффинные клетки оказываются под влиянием высокой концентрации глюкокортикоидов. У человека вненадпочечниковые хромаффинные клетки синтезируют только норадреналин; у гипофизэктомированных крыс резко падает уровень фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы, что сопровождается выраженным нарушением биосинтеза адреналина.

Падение активности фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы после гипофизэктомии связано в первую очередь с ускорением распада фермента. Показано (Ciarenello), что: 1) S-аденозилметионин (донор метильных групп в реакции обр зования ад-

реналина из норадреналина) придает трансферазе устойчивость к температурной или ферментативной инактивации и 2) уровень S-аденозилметионина в мозговом слое надпочечников после гипофизэктомии резко падает. Эти данные позволяют объяснить, каким образом введение глюкокортикоидов после гипофизэктомии способно восстанавливать уровень фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы до нормы (но не выше ее). Видимо, уже одно восстановление уровня S-аденозилметионина под действием глюкокортикоидов могло бы стабилизировать фермент и нормализовать его концентрацию, даже если при этом не происходит повышения скорости образования его мРНК и синтеза новых молекул фермента.

Хранение и высвобождение адреналина и норадреналина

Наиболее характерной особенностью хромаффинных клеток мозгового слоя надпочечников можно считать присутствие в них «хромаффинных гранул», сходных с запасными и секреторными гранулами клеток других эндокринных и экзокринных желез (рис. 13-3). Они представляют собой осмиофильные электроноплотные, покрытые оболочкой частицы, по размерам уступающие митохондриям. Эти гранулы удается достаточно хорошо очистить, и они изучены более подробно, чем гранулы других секреторных клеток.

Хромаффинные гранулы — высокоспециализированные, сложно устроенные органеллы; их содержимое окружено *мембраной*, которая содержит разнообразные белки и гликопротеины, включая H^+-АТФазу (АТФазу протонного насоса), белок-переносчик катехоламинов, белок-переносчик нуклеотидов, цитохром b-561, актин, различные гликопротеины (ориентированные внутрь клетки) и дофамин-β-гидроксилазу. Функциональное значение некоторых из этих веществ будет рассмотрено ниже.

К основным компонентам *содержимого гранул* (в процентах от общей сухой массы) относятся:

Катехоламины (в основном адреналин у большинства видов)	20
Нуклеотиды (70% АТФ)	15
Хромагранин А (белок)	25
Аскорбиновая кислота	0,8
Энкефалины	менее 0,5

При слиянии мембраны гранул с плазматической мембраной клетки все эти вещества высвобождаются, т. е. происходит их секреция. Имеют ли они (кроме катехоламинов) физиологическое значение — неизвестно. Хромогранин А — основной компонент растворимого содержимого гранул, но его функция не

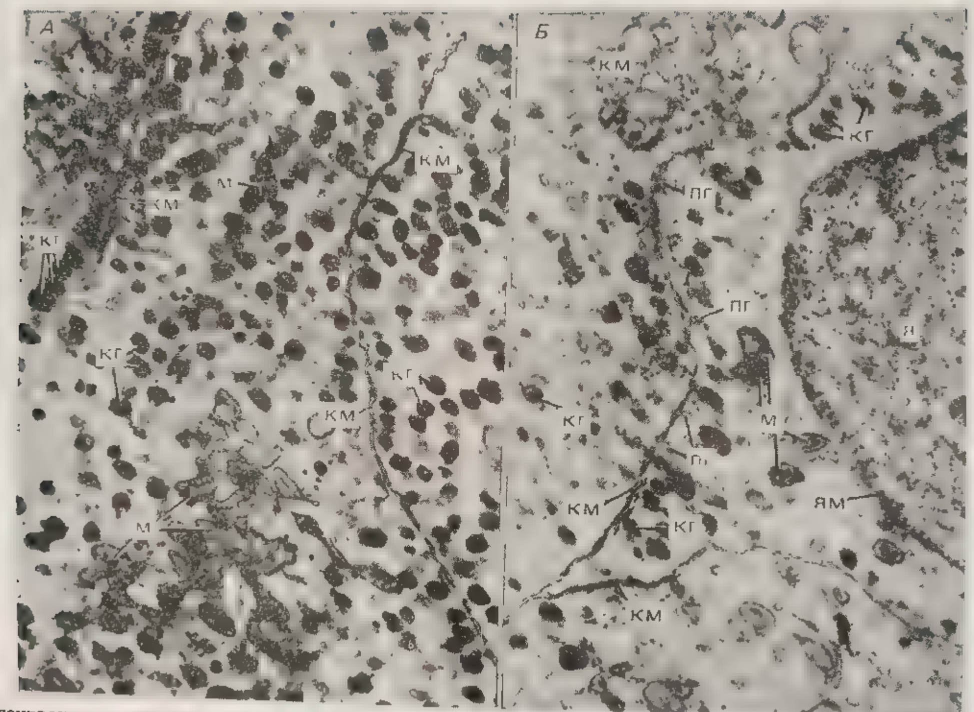


Рис. 13-3. Электронные микрофотографии (41000×) мозгового слоя надпочечников кролика. *А* — до и *Б* — после раздражения чревного нерва: кг — катехол-содержащие гранулы, км — клеточная мембрана; м — митохондрии; пг — пустые гранулы; Я — ядро; ям — ядерная мембрана. Обратите внимание на почти полное отсутствие «кг» в стимулированной клетке и локализацию немногих оставшихся на периферии клетки. Видно несколько «пг», контактирующих с клеточной мембраной (стрелки на рис. *Б*). (По DeRobertis E. D. P., Sabatini D. D. (1960). Fed. Proc., 19, Suppl. 5, 70. Воспроизведено с разрешения.)

известна. Не исключено, что энкефалины вызывают хорошо известное явление — гипоалгезию, характерную для спортсменов в разгар соревнований, но это тоже не доказано.

Клетки мозгового слоя надпочечников организованы таким образом, что концентрация катехоламинов в запасных гранулах составляет 0,55 М (т. е. в 10 000 раз больше, чем в окружающем цитозоле). Кроме того, поскольку дофамин-β-гидроксилаза локализована именно в гранулах (в основном в мембранной фракции), дофамин должен поступать в них; но поскольку метилирующий фермент фенилэтаноламин-N-метилтрансфераза находится в цитозоле, норадреналин должен выходить из гранул, а адреналин — вновь накапливаться в них для хранения. Последние исследования позволили расшифровать некоторые детали процессов биосинтеза и запасания катехоламинов.

Транспорт катехоламинов (дофамина и норадреналина) в гранулы — процесс, требующий энергии. Энергия генерируется движением протонов по электрохимическому протонному градиенту из гранулы в окружающую среду. Протонный градиент создается и поддерживается с помощью H^+-АТФазы, которая гидролизует АТФ на наружной поверхности мембраны гранулы и «накачивает» H^+ в гранулу. В результате содержимое гранул закисляется (pH 5,7) и приобретает более положительный заряд, чем цитозоль. Таким образом, протонный градиент представляет собой механизм запасания энергии, которая расходуется на захват катехоламинов и АТФ гранулами.

Большая разница между концентрациями катехоламинов в гранулах и окружающем цитозоле свидетельствует о том, что в гранулах существует специальный механизм для захвата гормонов. По крайней мере отчасти такой захват обеспечивается высоким содержанием в гранулах АТФ. АТФ связывается с катехоламинами и, возможно, с белками внутригранулярного матрикса, что препятствует «вытеканию» запасенного гормона; однако норадреналин — по крайней мере частично — должен оставаться в свободном (не связанном с АТФ) виде, чтобы поступать в цитозоль, где он метилируется с образованием адреналина.

Протонный насос, создающий градиент H^+ через гранулярную мембрану, играет важную роль в качестве источника энергии для транспорта электронов в гранулы. Дело в том, что содержащийся в гранулах аскорбат является донором электронов в реакции превращения дофамина в норадреналин, катализируемой дофамин-β-гидроксилазой; один из продуктов этой реакции — семидегидроаскорбат — должен перезаряжаться в аскорбат, чтобы обеспечить циклическое повторение реакции (обмен аскорбатом между гранулами и цитозолем не выявлен). Это осуществляется за счет поступления в гранулы электронов,

сопряженного с выходом протонов; такой обмен опосредуется связанным с гранулярной мембраной цитохромом b-561.

Описанные механизмы транспорта, черпающие энергию из протонного градиента, были подробно изучены на гранулах хромаффинных клеток, однако они имеют более широкое значение; аналогичные механизмы обнаружены в адренергических нейронах, тромбоцитах, нейрогипофизе, гепатоцитах, околоушной железе и других секреторных клетках (подробнее см. News et al.).

Сопряжение между стимулом и секрецией

Когда мышечная клетка сокращается в ответ на нервный стимул, в период между высвобождением ацетилхолина в области моторной концевой пластинки и сокращением протекают молекулярные процессы, которые обозначают собирательным понятием «сопряжение между стимулом и сокращением». Основную роль в таком сопряжении играет перераспределение Ca^{2+} между различными органеллами мышечной клетки.

Когда в клетке мозгового слоя надпочечников хромаффинные гранулы перемещаются к поверхностной мембране и затем высвобождают свое содержимое в межклеточную жидкость (в ответ на действие ацетилхолина), связь между стимулом и секреторной реакцией осуществляется серией процессов, которые называют «сопряжением между стимулом и секрецией». Дуглас и др. (Duglas et al.) убедительно доказали, что центральную роль в таком сопряжении играет приток кальция в клетку, вторичный по отношению к обусловленной ацетилхолином деполяризации мембраны. Эти данные были подтверждены многими исследователями и на других секреторных клетках. Последние доказательства были получены с помощью флуоресцентного зонда (Квин 2); они заключаются в том, что при стимуляции высвобождения катехоламинов хромаффинными клетками под действием ацетилхолина или среды с высоким содержанием K^+ (т. е. деполяризующей) концентрация Ca^{2+} в этих клетках возрастает (Knight, Kesteren). Теперь уже нет сомнений в том, что увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} служит необходимым и достаточным условием для секреции катехоламинов путем экзоцитоза.

Регуляция движения секреторных гранул, их взаимодействия с внутренней поверхностью плазматической мембраны и выброса содержимого путем экзоцитоза очень сложна. Гранулы должны перемещаться к плазматической мембране, но этот путь может быть довольно коротким благодаря тому, что плазматическая мембрана образует складки, которые вдаются в глубь клетки. Гранулы способны объединяться в группы. С од-

ной стороны, связь гранулярных мембран с актином (компонентом многих структур цитоскелета) свидетельствует о возможном участии цитоскелета в перемещении гранул. Но, с другой стороны, при возрастании $[Ca^{+}]_ц$ происходит уменьшение вязкости актин-гранулярного геля. Отсюда можно предположить, что возрастание $[Ca^{2+}]_ц$ высвобождает гранулы из того комплекса со структурами цитоскелета, который существует при низкой $[Ca^{2+}]_ц$, и тем самым позволяет им двигаться к плазматической мембране. Однако механизм этого процесса до сих пор неизвестен.

Когда гранула вплотную приблизится к плазматической мембране, возникает необходимость в некоторой силе для того, чтобы преодолеть взаимное отталкивание двух мембран. После этого должен произойти строго локализованный разрыв мембраны и ее реорганизация в новый липидный бислой. Предположение о возможной роли Ca^{2+} в этих процессах высказывалось уже давно, а недавно было показано (Burgoyne, Geisow), что кальмодулин способен связываться с гранулярной мембраной и индуцировать избирательное фосфорилирование ее белков. Хотя ингибитор кальмодулина трифторперазин не блокирует стимуляцию экзоцитоза, Кенгсбергу и Трифаро (Kengsberg, Trifaro) удалось затормозить стимулированный экзоцитоз путем микроинъекций в растущие in vitro хромаффинные клетки антител к кальмодулину. Эти несколько противоречивые данные все же свидетельствуют о роли комплекса Ca_4-кальмодулин в процессе экзоцитоза.

Новое направление в анализе механизмов экзоцитоза связано с открытием синексина — белка с мол. массой 47 000, который в присутствии Ca^{2+} полимеризуется в агрегаты (см. Creutz et al.). Эти полимеры в свою очередь вызывают агрегацию одиночных секреторных гранул. Кроме того, они преимущественно связываются с определенными фосфолипидами. Вполне вероятно, что синексин опосредует какие-то этапы плейотропного действия Ca^{2+} на секреторные клетки.

Описание механизмов, обеспечивающих кругооборот полифосфатидилинозитола, способствовало проведению многочисленных экспериментов по выяснению роли протеинкиназы С в стимулированной хромаффинной клетке. Однако, хотя этот фермент и присутствует в клетках, секретирующих катехоламины, функция его пока неизвестна.

При длительной стимуляции экзоцитоза слияние гранулярных мембран с плазматической, казалось бы, должно приводить к беспредельному увеличению последней. На самом деле этого не происходит; следовательно, должен существовать механизм, обеспечивающий вырезание участков мембраны с последующим возвращением их через комплекс Гольджи в но-

вый цикл либо разрушением их в фаголизосомах и утилизацией продуктов деградации. Действительно, в хромаффинной клетке протекают оба этих процесса. Вырезание участков плазматической мембраны и вступление их тем или иным способом в повторные циклы происходит далеко не случайным образом. С помощью флуоресцирующих антител к отдельным белкам гранулярной мембраны было установлено, что те ее участки, которые встраиваются в плазматическую мембрану в момент экзоцитоза, в последующем подвергаются *избирательному* узнаванию, вырезанию и эндоцитозу, а плазматическая мембрана при этом полностью восстанавливает свою целостность. Таким образом, существует циклическое перемещение гранулярных мембран к плазматической мембране и от нее. Молекулярные механизмы этой прецизионной химической «микрохирургии» остаются неизвестными.

Один из наиболее существенных результатов работ, начавшихся с анализа сопряжения между стимулом и секрецией в хромаффинных клетках, заключается в установлении сходства механизмов секреции во всех до сих пор изученных клетках. Это не зависит от того, вызывается ли секреторная реакция нервным или гормональным стимулом. Перемещение органелл, слияние мембран и вступление их в повторные циклы характерно для секреторных реакций в целом, а Ca^{2+}, по-видимому, играет центральную роль во всем этом процессе, независимо от типа клеток, осуществляющих секрецию.

Метаболизм и инактивация катехоламинов

Концентрацию адреналина и норадреналина в крови можно определить с помощью ряда сложных методов, которые основаны на регистрации либо флуоресценции, либо количества продуктов ферментативного превращения катехоламинов. Эти методы используются главным образом в научно-исследовательских лабораториях. Однако во многих клинических лабораториях катехоламины и продукты их метаболизма определяют в суточной моче с применением простых биологических методов, основанных на регистрации эффектов катехоламинов в определяемой пробе либо на артериальное давление у крыс, либо на сократительную реакцию различных гладкомышечных препаратов in vitro (см. Vane).

Установлено, что период полураспада введенных катехоламинов не достигает и 20 с, т. е. примерно равен времени оборота крови. Концентрация адреналина в плазме крови у здорового человека — около 0,05 нг/мл, а норадреналина — обычно в четыре раза выше (0,2 нг/мл). Тяжелый стресс (например, инфаркт миокарда) повышает концентрацию адреналина

и норадреналина до 0,27 и 4,1 нг/мл соответственно. При тяжелом психологическом стрессе экскреция катехоламинов с мочой может возрастать до такого уровня, который наблюдается при развитии опухоли, продуцирующей катехоламины (феохромоцитома, см. ниже). Предоперационный наркоз обычно сопровождается выраженной гиперкатехолемией.

Эффекты нейромедиаторов и родственных им соединений, как правило, кратковременны, поскольку эти вещества быстро элиминируются или инактивируются. Гиперсекреция приводит к повышению концентрации аминов в области нервных окончаний или периферических рецепторов лишь потому, что скорость секреции превышает скорость инактивации.

Катехоламины инактивируются либо путем обратного захвата нервными окончаниями, либо в результате метаболических превращений, происходящих в постсинаптической клетке или вблизи нее, а также в печени. При стимуляции симпатических нервов некоторая часть выделившегося норадреналина попадает в кровь. Основным источником норадреналина крови служат именно симпатические нервы, а не мозговой слой надпочечников. Катехоламины, секретируемые надпочечниками, частично захватываются нервными окончаниями, а частично превращаются в печени (рис. 13-4). Ферменты, которые разрушают катехоламины в печени, обнаружены и в постсинаптических нейронах, где они действуют на норадреналин, не попавший путем обратного захвата в пресинаптические нервные окончания (рис. 13-5). В нервной системе приблизительно соотношение количества норадреналина, подвергающегося обратному захвату и инактивированного ферментативным путем, составляет 80 : 20.

Процесс обратного захвата стереоспецифичен; в то же время он действует не только в отношении норадреналина, но и адреналина, дофамина и некоторых близких по химическому строению синтетических аналогов, например амфетамина. Блокада обратного захвата трициклическими антидепрессантами (см. ниже) занимает центральное место в химиотерапии депрессивных состояний. Эффект кокаина и амфетамина также частично обусловлен блокадой обратного захвата катехоламинов.

Бóльшая часть образующихся в организме катехоламинов обнаруживается в моче в виде 3-метокси-4-гидроксифенилуксусной кислоты и 3-метокси-4-гидроксифенилгликоля (рис. 13-4). Оба этих соединения образуются при участии как катехол-О-метилтрансферазы, так и моноаминоксидазы. 3-Метоксиамины (метанефрин и норметанефрин), хотя и обнаруживаются в моче в меньших концентрациях, тем не менее считаются более надежными показателями общей продукции катехоламинов, чем дезаминированные соединения.

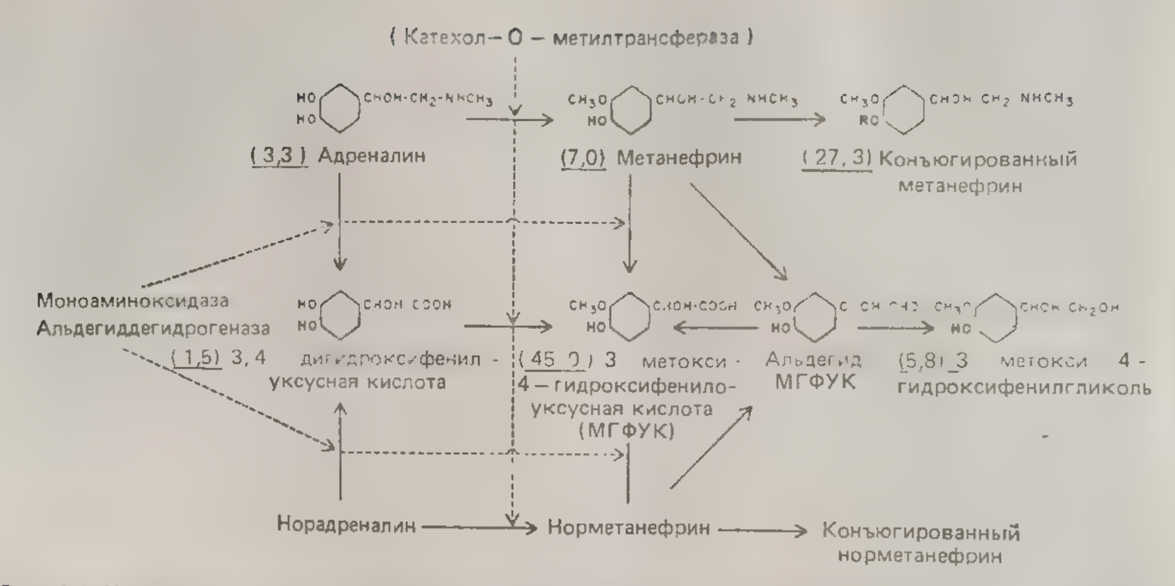


Рис. 13-4. Метаболизм катехоламинов. Цифры в скобках отражают процент введенной дозы меченого адреналина, который обнаруживается в моче в указанной форме. В реакциях, обозначенных верхней и нижней пунктирными стрелками, принимают участие как моноаминоксидаза, так и альдегиддегидрогеназа. (По Axelrod J. In: Vane J. R., Wolstenholme G. E. W., O'Connor M. (eds) (1960). Adrenergic Mechanisms, Ciba Foundation Symposium, Boston, Little, Brown a. Co. Воспроизведено с разрешения.)

Нервное окончание

Рецептор

(1)

(НА)

(2)

Стимуляция нерва

(5)

НА

(4)

КОМТ

(3) МАО (3)

НМН

ДГФУК

Сокращения

(НА) — внутривезикулярный норадреналин

НА — свободный норадреналин

НМН — норметанефрин

ДГФУК — 3,4 — дигидроксифенилуксусная кислота

} Неактивные продукты

МАО — моноаминоксидаза

КОМТ — катехол — О метилтрансфераза

Вещества	*Эффект*	*Поведение животных*
Резерпин	Снижает НА (1) и (2)	Седативная реакция
Амфетамин	Высвобождает НА (1) и (2) Ингибирует захват НА (4)	Возбуждение (сменяемое реактивной седативной реакцией)
Ингибиторы МАО	Ингибирует распад НА (3)	Возбуждение
Имипрамин	Ингибирует захват НА (4) Потенцирует эффект НА (5)	Возбуждение

Рис. 13-5. Предполагаемые участки действия фармакологических средств, влияющих на метаболизм катехоламинов в мозге. (По Schildkraut J. J. (1965). Am. J. Psych., 122, 509; Axelrod J. (1966). Pharmacol. Rev., 18, 95.)

Адренергические рецепторы и клеточный механизм действия катехоламинов

Хотя истоком рецепторной теории служит гипотеза Пауля Эрлиха о взаимодействии лекарственного вещества и клетки как «ключа с замком», началом использования этих представлений в эндокринологии можно считать эксперименты Ленгли (Langloy) с экстрактами надпочечников. А. Кларк (A. Clark) в 1937 г. высказал мысль о существовании рецепторов. Он исходил из того, что различные вещества вызывают специфические реакции; небольшое изменение их структуры обусловливает антагонистическое действие по отношению к эффекту исходного вещества, а разные ткани по-разному реагируют на данное вещество. Большинство современных работ по рецепторам в той или иной степени лишь отражают положения Кларка.

В 1930-х гг. эффекты адреналина описывались то как стимулирующие, то как ингибиторные; Кеннон и Розенблют (Cannon, Rosenblueth) предположили существование двух разных молекулярных форм «симпатина», которые вызывают либо стимуляцию (симпатин Е), либо угнетение (симпатин I). Проанализировав на разных тканях действие шести различных, но структурно очень близких катехоламинов, Алквист (Ahlquist, 1948) пришел к выводу о существовании двух типов *рецепторов,* реагирующих на *один* гормон. Концепция Алквиста об α- и β-рецепторах в сочетании с рабочей классификацией рецепторов *по интенсивности реакции на ряд агонистов,* до сих пор остается одной из основ классификации адренергических рецепторов.

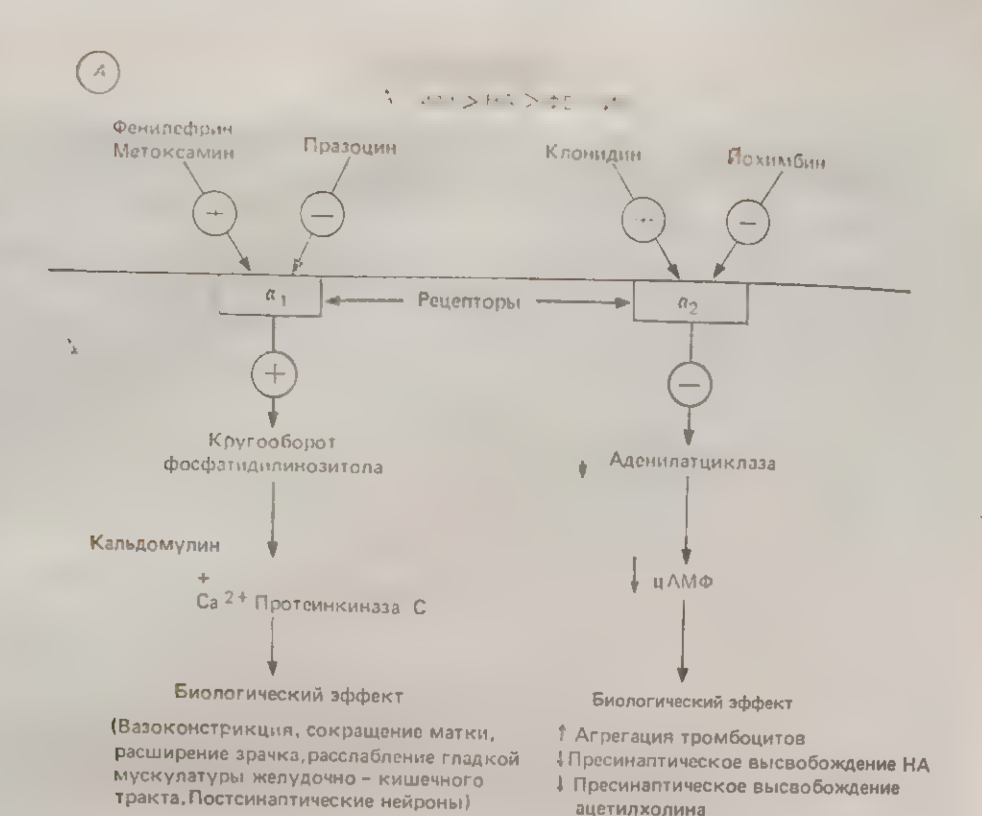
Среди тысяч аналогов катехоламинов, синтезированных химиками-органиками, было найдено и несколько таких, которые, обладая определенным сходством пространственной структуры с природными гормонами и нейромедиаторами, действовали как их *конкурентные антагонисты.* Они нековалентно связывались с рецепторами, но были лишены способности инициировать биологическую реакцию. Некоторые из этих веществ обладали столь высокой избирательностью блокирующего действия, что это позволило разделить рецепторы на подгруппы. Многие синтетические аналоги катехоламинов обладают большей избирательностью действия на отдельные типы рецепторов, чем природные вещества. (Между ними и «чистыми» антагонистами лежит большой ряд частичных агонистов.) Накопленные знания относительно множественности катехоламиновых рецепторов позволяют использовать синтетические аналоги (как агонисты, так и антагонисты) в качестве молекулярных маркеров рецепторов или индикаторов их индивидуальности.

Постепенно стали складываться представления о механизмах реализации биологических эффектов. Выяснилось, что катехоламиновые рецепторы разных подтипов опосредуют биологические реакции с помощью разных вторых посредников. На основании этого мы имеем возможность сгруппировать катехоламиновые рецепторы, принимая во внимание следующие их свойства: 1) интенсивность реакции на разные агонисты и, в частности, «предпочтение» некоторых эмпирически открытых синтетических агонистов; 2) степень их блокады отдельными синтетическими антагонистами; 3) механизм действия (стимуляция или ингибирование аденилатциклазы или стимуляция кругооборота полифосфатидилинозитола).

С помощью этих критериев выделяют четыре типа катехоламиновых рецепторов: α_1, α_2, β_1 и β_2 (рис. 13-6). Каждый из них отдает «предпочтение» одному или нескольким определенным агонистам и одному или нескольким антагонистам. Рецепторы всех четырех типов солюбилизированы и очищены с помощью различных методов, включая аффинную хроматографию и фотоаффинное мечение радиоактивным лигандом (подробности см.: Caron et al., а также Benovic et al.). Все они представляют собой гликопротеины с мол. массой 60 000—80 000, но в то же время это *разные* гликопротеины и поэтому продукты разных генов. В случае β-рецепторов очищенный гликопротеин заключали в фосфолипидные пузырьки и затем добивались их слияния с эритроцитами лягушки, содержащими $G_с$-белок и аденилатциклазу, но не рецепторы катехоламинов. В результате аденилатциклаза приобретала способность стимулироваться изопротеренолом.

Рецептор каждого подтипа можно представить себе в виде молекулы, у которой внешний домен связывает определенный лиганд, а обращенный внутрь мембраны домен после связывания лиганда способен распознать соответствующий белок-преобразователь и взаимодействовать с ним. В результате происходит либо активация или ингибирование аденилатциклазы, либо активация фосфолипазы С. В гл. 3 рассматривалась роль $G_с$-белка в активации аденилатциклазы и $G_и$-белка в ее ингибировании. Как β_1-, так и β_2-рецепторы инициируют реакции через $G_с$, тогда как α_2-рецептор (как отмечалось выше) вызывает диссоциацию $G_и$ на $G_{и\alpha}$ и $G_{и\beta}$. Избыток свободного $G_{и\beta}$ затем ингибирует диссоциацию $G_с$ на субъединицы и тем самым снимает тоническую стимуляцию, приводя к снижению синтеза цАМФ. (Обозначения α и β для субъединиц G-белка не имеют никакого отношения к классификации катехоламиновых рецепторов на α и β!)

После того как было установлено, что адреналин стимулирует гликогенолиз в печени крысы по механизму, не зависяще-



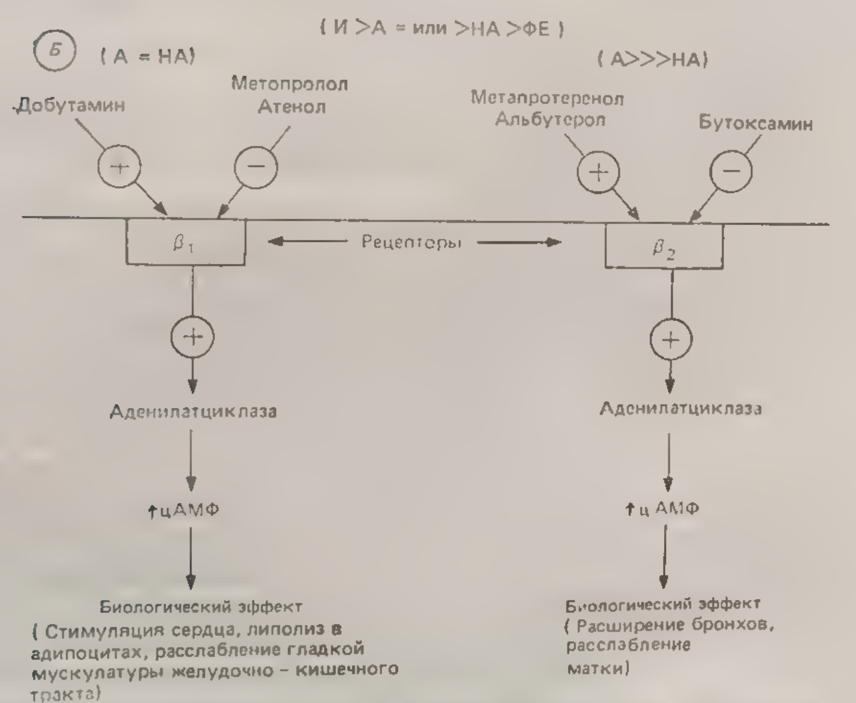


Рис 13-6. *А*. Классификация α_1- и α_2-катехоламиновых рецепторов на основании действия избирательных агонистов и антагонистов и биологических эффектов. А — адреналин, НА — норадреналин, ФЕ — фенилефрин, И — изопретеренол. *Б*. Классификация β-катехоламиновых рецепторов по тому же принципу, что и на рис. *А*.

му от цАМФ, удалось показать, что этот процесс активируется в результате опосредованного комплексом Ca_4-кальмодулин фосфорилирования фосфорилазы (Exton). С выяснением деталей кругооборота фосфатидилинозитола оказалось, что «задействованный» α_1-катехоламиновый рецептор стимулирует специфическую фосфодиэстеразу полифосфатидилинозитола (фосфолипазу С), приводя ко всем тем последствиям, которые были изложены в гл. 3. Показано, что G-белок (т. е. требующий ГТФ и активируемый стабильным аналогом ГТФ) передает информацию о «занятости» α_1-рецептора на фосфолипазу С и тем самым активирует ее (Wallace, Fain).

Распределение подтипов катехоламиновых рецепторов по тканям и разнообразие биологических эффектов, опосредуемых ими, вновь подчеркивают значение дифференцировки клеток-мишеней как фактора, определяющего характер клеточного ответа на гормон. Чтобы иметь возможность реагировать на данный катехоламин определенным образом, клетка-мишень должна встроить в конкретный участок своей мембраны нужный рецептор вместе с адекватными преобразующими элементами и ферментными усилителями. Затем, в зависимости от соотношения образующихся посредников она должна синтезировать необходимые для фосфорилирования белковые субстраты. Все это — важные процессы в ходе дифференцировки, определяющей, будет ли клетка печеночной, жировой или мышечной.

Регуляция рецепторов: десенситизация (тахифилаксия)

Рецепторы, столь тесно связанные с регуляцией метаболических процессов в клетке, в то же время сами являются объектом регуляции. Это видно на примере снижающей регуляции популяций рецепторов на плазматической мембране в условиях постоянного присутствия агониста. Феномен снижающей регуляции рецепторов — это лишь один из аспектов более общей проблемы *десенситизации* (*или тахифилаксии*), которую можно определить как *снижение чувствительности клетки к стимуляции, когда на нее длительно воздействует стимулирующий агент*. Феномен десенситизации наблюдается у разнообразных видов — от бактерий до человека. Исследование системы β-адренорецептор-G-белок-аденилатциклаза позволило построить механистическую модель десенситизации, которая, видимо, имеет и более общее значение (Sibley, Lefkowitz).

Десенситизация к природному лиганду клетки (гомологичная десенситизация) протекает через ряд отдельных стадий. Вначале (от секунд до нескольких минут) происходит *разобщение* рецептора и комплекса G_c-белок—аденилатциклаза без снижения числа рецепторов на поверхности клетки. Имеются

некоторые данные, указывающие на фосфорилирование рецептора цАМФ-независимой протеинкиназой как на причину такого разобщения. Спустя некоторое время наблюдается удаление или *секвестрация* рецепторов (без G-белка или аденилатциклазы) с клеточной поверхности. Не совсем ясно, находятся ли в эндоцитозных пузырьках фосфорилированные рецепторы. На самом деле фосфорилирование может предварять эндоцитоз. После секвестрации пузырек, содержащий рецептор, подвергается процессингу либо в аппарате Гольджи, откуда он возвращается обратно в плазматическую мембрану, либо в фаголизосомах, где полностью распадается. Наконец, когда прошедшие через аппарат Гольджи рецепторы вновь встраиваются в плазматическую мембрану, происходит восстановление чувствительности (*ресенситизация*). При кратковременном воздействии агониста весь этот процесс не требует синтеза белка. При более длительном воздействии, когда в фаголизосомах разрушается бóльшая доля подвергшихся эндоцитозу рецепторов, для восстановления полного набора рецепторов на поверхности клетки синтез белка становится необходимым.

Другой тип десенситизации (гетерологичная) имеет место в тех случаях, когда комплекс G-белок-аденилатциклаза реагирует не на один, а на несколько гормонов. При введении гормона А снижается реакция на гормон В, хотя число рецепторов В на поверхности клетки при этом и не уменьшается. Как было установлено на реконструированной мембранной системе (т. е. системе, где белок G_c встроен в лишенную его мембрану), в таких случаях нарушается функция белка G_c. Молекулярная природа «повреждения» G_c-белка выяснена не полностью, но может заключаться в его фосфорилировании. Известно, что сам рецептор подвергается фосфорилированию (он служит субстратом почти всех протеинкиназ, включая цАМФ-зависимую и протеинкиназу С), и это нарушает его способность взаимодействовать с G_c.

Влияние ряда гормонов на клеточные реакции, опосредуемые катехоламиновыми рецепторами

Выраженным влиянием на чувствительность тканей к β-адренергической стимуляции обладают *тиреоидные гормоны* (гл. 10). В некоторых (но не во всех) тканях действие T_4 способствует возрастанию числа β-рецепторов на плазматической мембране клеток. Даже в тех тканях, которые не обнаруживают изменения числа рецепторов, чувствительность к β-агонистам зависит от тиреоидного статуса. При гипотиреозе наблюдается сниженная реактивность по отношению к катехоламинам (т. е. меньшее накопление цАМФ в ответ на стандартный сти-

мул) без изменения числа рецепторов. Считают, что это может объясняться разобщающим эффектом дефицита тиреоидных гормонов на систему рецептор-G-белок-аденилатциклаза.

Глюкокортикоиды тоже резко меняют чувствительность многих тканей к β-адренергической стимуляции (см. обзор Davies, Lefkowitz). При введении глюкокортикоидов в некоторых тканях возрастает плотность рецепторов и их сродство к агонистам. Наблюдается и повышенное сопряжение рецептора с аденилатциклазой и активация последней. Адреналэктомия, как правило, вызывает противоположные изменения. В отсутствие глюкокортикоидов нарушается процесс ресенситизации; ликвидация дефицита стероидов стимулирует этот процесс. Хотя было описано влияние на G-белок (количество? активность?), объяснение механизмов этих феноменов отсутствует.

Эффекты гормонов мозгового слоя надпочечников

Эффекты адреналина и норадреналина затрагивают практически все функции организма; едва ли найдется область физиологии, где бы ни рассматривались эти соединения. Их влияние на мозг, сердце и кровообращение, гладкую мускулатуру желудочно-кишечного тракта, матки, глаз и бронхов, центральную нервную систему, скелетные мышцы, свертывание крови, селезенку, перераспределение калорий в организме и многие другие физиологические функции столь велико и разнообразно, что вряд ли одному специалисту под силу охватить это во всех деталях. Однако многие из перечисленных эффектов имеют нечто общее. Хотя пуриста, с неприязнью относящегося к телеологическому мышлению в биологии, обычно смущает данная Кенноном характеристика симпатоадреналовой активности как средства обеспечения реакции «борьбы и бегства», факт заключается именно в том, что в результате этой активности мобилизуются все силы организма для противостояния чрезвычайным условиям.

Общие проявления одновременного возрастания активности симпатической нервной системы и мозгового слоя надпочечников включают сердечно-сосудистые реакции, качественно сходные с наблюдающимися в начале физической деятельности, — повышение минутного объема сердца, частоты пульса, артериального давления. Кроме того, после кратковременной остановки дыхания возрастает его минутный объем. Сужение сосудов внутренних органов (включая и падение почечного кровотока) и расширение сосудов скелетной мускулатуры обусловливает перераспределение кровотока как бы в предвидении мышечной работы. «Пробуждающее» влияние катехоламинов на ЦНС сокращает латентный период и ускоряет ответные ре-

акции. Гликогенолиз в печени с сопутствующей гипергликемией и мобилизация большого количества свободных жирных кислот (СЖК) из жировых депо — все это вместе направлено на обеспечение мышечной работы легко доступной энергией. Химические изменения в самих мышцах повышают их работоспособность и, возможно, снижают генерируемый ими сигнал утомления. В то же время влияние катехоламинов на ЦНС может ослаблять восприятие этого сигнала. Как бы в предвидении кровопотери сокращается селезенка, что приводит к увеличению объема циркулирующей крови и количества эритроцитов и одновременно к возрастанию свертываемости крови.

Чрезмерный упор на те аспекты действия катехоламинов, которые связаны с «борьбой и бегством», затушевывает тот факт, что симпатическая нервная система и мозговой слой надпочечников, как отмечалось выше, реагируют на различные стимулы избирательным включением подсистем. Никто не ударяет сразу по всем 88 клавишам пианино; всякий раз звучит аккорд, соответствующий обстоятельствам.

Перечень эффектов катехоламинов занял бы много страниц. Здесь приведен лишь их сокращенный список, достаточный, чтобы проиллюстрировать всепроникающее влияние этих соединений. Как уже подчеркивалось, реакции отдельных клеток зависят от типа и соотношения рецепторов, экспрессируемых на их поверхности, а также от их «биохимического потенциала» (вторые посредники, субстраты киназ и т. д.). Многие клетки обладают не одним, а несколькими системами рецептор—реакция, причем зачастую выявление скрытой способности реагирования возможно лишь в условиях блокады доминантной реакции с помощью специфического блокатора рецепторов. Например, β-стимуляция секреции инсулина лучше всего проявляется в присутствии α-блокатора. Набор рецепторов на некоторых клетках изменяется в зависимости от фазы их жизненного цикла (клетки кишечных крипт); другие полностью дифференцированные клетки одного и того же типа (гладкомышечные клетки сосудов, адипоциты) содержат разные рецепторы в зависимости от своего анатомического расположения.

Центральная нервная система: катехоламины и аффективные расстройства

Нужно ясно представлять себе, что столь сложные переменные, как эмоции, настроение или аффекты, являются таким же объектом гомеостатической регуляции, как концентрация глюкозы в крови или кальция в сыворотке. В той или иной степени почти у каждого человека имеются колебания настроения относительно некоего воображаемого равновесного «уров-

ня». Однако у некоторых лиц амплитуда таких колебаний очень велика и могут иметь место длительные периоды инвалидизирующей депрессии или ничем не снимаемой маниакальности. Исследования на экспериментальных моделях у животных показывают, что резерпин — вещество, резко снижающее уровень катехоламинов, — обладает седативным действием и обусловливает гипоактивность. При приеме резерпина у людей возникает ощущение депрессии. Другие вещества (например, ингибиторы моноаминоксидазы) препятствуют разрушению катехоламинов и вызывают активацию поведения животных и ликвидацию депрессии у людей. На основании подобных наблюдений Шильдкрот и Кети (Schildkraut, Kety) предложили «катехоламиновую гипотезу аффективных расстройств». Хотя первоначальная гипотеза в дальнейшем была модифицирована с учетом роли других нейромедиаторов, она сохраняет свое значение в качестве теоретической основы химиотерапии при эмоциональных сдвигах и декомпенсации аппарата регуляции настроения. Точки приложения действия некоторых применяемых при этом фармакологических средств показаны на рис. 13-5.

Считается, что в патогенезе нарушений настроения, суммарно называемых депрессией, принимают участие норадреналин и серотонин. У некоторых больных изменения экскреции метаболитов катехоламинов с мочой тесно коррелируют с субъективной оценкой тяжести депрессии. У других, с так называемой серотониновой депрессией (Berg et al.), обнаруживается низкая концентрация метаболита серотонина — 5-оксииндолуксусной кислоты — в спинномозговой жидкости.

Далее обнаружилось, что нарушение дофаминовой регуляции связано с психозами, особенно шизофренией, а также с болезнью Паркинсона, которая характеризуется нарушением координации движений. В первом случае симптомы заболевания смягчаются под влиянием разнообразных веществ, действующих как дофаминергические блокаторы. Нарушение моторной функции при болезни Паркинсона связывают с подавлением активности дофаминергической системы. Вопрос о модификации функции центральных нейромедиаторов с помощью фармакологических средств имеет важные терапевтические, токсикологические и социальные аспекты (см. Baldessarini).

Трициклические антидепрессанты

Общее свойство трициклических антидепрессантов — блокада обратного захвата биологических аминов нервными окончаниями пресинаптических нейронов из синаптической щели (рис. 13-7). Это увеличивает эффективную концентрацию амина в области его рецепторов на постсинаптических нейронах.

Таким образом, в условиях функциональной недостаточности нейромедиатора предотвращение его обратного захвата (на долю которого в случае норадреналина приходится около 80%) компенсирует эту недостаточность. Ранее блокада обратного захвата считалась главным механизмом антидепрессивного действия указанных веществ, но в настоящее время такая точка зрения выглядит слишком упрощенной.

Хотя трициклические соединения обладают химическим сходством, они различаются по своей способности блокировать обратный захват аминов. В табл. 13-1 показан спектр действия этих веществ — от практически избирательной блокады обратного захвата серотонина (амитриптилин) до избирательной блокады обратного захвата норадреналина (дезипрамин). Нортриптилин и имипрамин блокируют обратный захват и серотонина, и норадреналина. Такое сравнение чрезмерно упрощает крайне сложный предмет, поскольку в таблице не отражена различная по степени антихолинергическая активность трициклических соединений, которая может играть важную роль в механизме их лечебного действия при клинической депрессии. Хотя значение холинергических механизмов в патогенезе депрессии остается неясным, имеются данные, что антихолинергическая активность может в какой-то степени определять антидепрессивный эффект трициклических соединений. Вполне возможно, что будущие исследования этиологических факторов депрессии обнаружат роль и других веществ: гистамина, аминокислот с возбуждающим действием (например, глутамата и аспартата), аминокислот с ингибиторным действием (ГАМК), опиатоподобных пептидов, других пептидов (например, гипоталамические рилизинг-факторы и фрагменты АКТГ) и про-

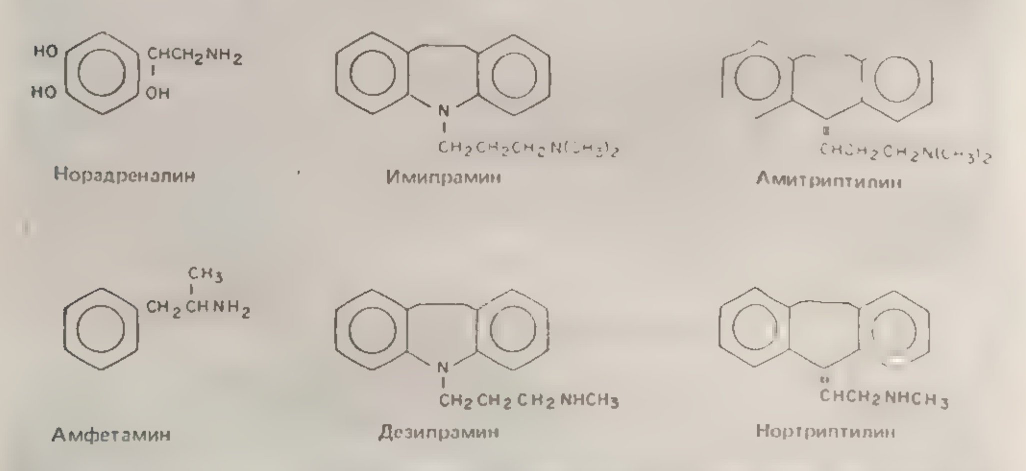


Рис. 13-7. Имипрамин, амитриптилин, дезипрамин, нортриптилин, норадреналин и амфетамин.

Таблица 13-1. Сравнение ингибиторных эффектов трициклических антидепрессантов на обратный захват нейромедиаторов[1]

Вещество	Нейромедиатор	
	серотонин	норадреналин
Амитриптилин	++++	0
Нортриптилин	++	+−−
Имипрамин	+++	+−−
Дезипрамин	0	+++−−

[1]) По Mass J. W. (1975). *Arch.* Gen. Psychiatry, 32, 1357.

стагландинов. Трициклические антидепрессанты, подобно большинству лекарственных средств, обладают нежелательными побочными эффектами, включая провокацию аритмий и инфаркта миокарда (см. Baldessarini).

Ингибиторы моноаминоксидазы

При ингибировании митохондриального фермента моноаминоксидазы (МАО) бóльшая часть аминов, подвергающихся обратному захвату, вновь упаковывается в гранулы и подготавливается к последующему выбросу. Это еще один способ «продлить жизнь» недостаточному количеству аминов. Ингибиторы моноаминоксидазы широко применялись для лечения депрессий и у некоторых больных оказались весьма эффективными. Однако широкое использование трициклических соединений ограничило применение этих ингибиторов (см. Lake and Ziegler).

Сердце и кровеносные сосуды

Непрерывное тонкое приспособление функции сердца к меняющимся условиям и регуляция артериального давления в основном обусловливается норадреналином. Что касается адреналина, то он вносит свой вклад в условиях стресса, включая психологическое напряжение, связанное со страхом и тревогой. Через β_1-рецепторы катехоламины *увеличивают частоту сердечных сокращений* (положительный хронотропный эффект), *силу сокращений* сердца (положительный инотропный эффект), *скорость проведения возбуждения* и *потребление кислорода* сердцем. В то же время катехоламины *сенсибилизируют сердце к нарушающим ритм воздействиям* хлорированных углеводородов или физического напряжения. (Особенно опасно сочетание охлаждения с физической работой.)

Адреналин оказывает сложное влияние на коронарное кровообращение, но преимущественно расширяет коронарные сосуды. Этот эффект может быть как прямым (β-эффект на гладкие мышцы сосудов), так и опосредованным (через локальное высвобождение аденозина вследствие стимуляции метаболизма, связанной с увеличенной работой сердца).

Наряду с увеличением минутного объема сердца, обусловленным положительным хроно- и инотропным действием, норадреналин, равно как и адреналин, через α-рецепторы вызывают периферическую вазоконстрикцию в отдельных участках сосудистого ложа, особенно в коже, слизистых оболочках, почках, а также венозном русле. Характер перераспределения кровотока обычно способствует сохранению тепла. Сосудорасширяющие (β_2) эффекты катехоламинов проявляются либо на фоне введения α-блокаторов, либо при введении очень малых доз адреналина, поскольку гладкомышечные клетки сосудов, содержащие β_2-рецепторы, более чувствительны, чем клетки с α_1-рецепторами. В этих условиях (α-блокатор или малая доза) адреналин может вызвать не повышение, а *падение* артериального давления. Обычное же повышение артериального давления сопровождается ростом пульсового давления, поскольку влияние на систолическое давление оказывается большим, чем на диастолическое (это характерно и для гипертиреоза, при котором имеет место повышение чувствительности к катехоламинам).

У экспериментальных животных, которым в течение нескольких дней вводили катехоламины (или у некоторых больных с опухолями, продуцирующими катехоламины) наблюдаются тяжелые повреждения клеток сосудов и сердечной мышцы. Этот эффект, который можно предотвратить веществами, блокирующими кальциевые каналы, объясняют длительным повышением внутриклеточной концентрации Ca^{2+}.

Легкие

Оба гормона увеличивают частоту и глубину дыхания после кратковременной его остановки. Считают, что остановка дыхания возникает рефлекторно, в результате влияния повышенного артериального давления на каротидный синус.

Адреналин, действуя через β_2-рецепторы, является мощным бронхорасширяющим агентом и уже давно применяется для лечения бронхиальной астмы. Как упоминалось в гл. 4, резкое сужение бронхов при этом заболевании связано с локальным высвобождением содержащих серу пептидных лейкотриенов.

Гладкая мускулатура

Разнообразие эффектов, которые оказывают адреналин и норадреналин на гладкие мышцы сосудов в различных участках системы кровообращения, обнаруживается и при анализе реакций других типов гладкой мускулатуры на введение этих веществ. Многие гладкие мышцы в организме, включая несфинктерные мышцы желудочно-кишечного тракта, бронхиол и мочевого пузыря, под действием адреналина или стимуляции симпатических нервов расслабляются. Другие гладкие мышцы, в том числе мышцы селезеночной капсулы, сфинктеров желудочно-кишечного тракта, матки, мышцы, поднимающие волосы на коже, мигательной перепонки у кошек, мышца, расширяющая зрачок, — под действием адреналина сокращаются.

Реакция некоторых гладкомышечных структур (например, матки) на катехоламины зависит от вида животного, а также от наличия или отсутствия беременности. В гладкой мышце матки имеются как β-, так и α-рецепторы. Стимуляция α-рецепторов вызывает ее сокращение, а β-рецепторов — расслабление. При этом эстрогены повышают чувствительность к α-стимуляции, тогда как прогестерон приводит к преобладанию β-рецепторной реакции.

Скелетные мышцы

Уже давно было показано, что продолжительность работы скелетной мышцы при длительной стимуляции можно значительно увеличить с помощью адреналина, который способен повышать силу сокращений истощенного мышечного препарата[1]. Эти эффекты адреналина, по крайней мере отчасти, не зависят от аппарата нейромышечной передачи, поскольку их удается воспроизвести даже в условиях приложения стимула непосредственно к мышечным клеткам in vitro. Один из наиболее ярких метаболических эффектов адреналина тоже наблюдается в скелетной мышце. Он заключается в ускорении гликогенолиза с накоплением лактата, который частично переносится в печень, где превращается в гликоген. Затем гликоген распадается до глюкозы и вновь поступает в кровоток. Лактат попадает и в сердце, где он эффективно используется в качестве источника энергии.

[1] Аналогичный феномен, наблюдаемый при раздражении симпатического нерва, был открыт впервые Л. А. Орбели и А. Г. Гинецинским и лег в основу теории адаптационно-трофической функции симпатической нервной системы. — *Прим. перев.*

Показано, что адреналин вызывает липолиз триацилглицеролов в мышечной клетке, точно так же, как это происходит в жировой клетке, т. е. через систему цАМФ.

Печень

Гликогенолитический эффект адреналина был отправной точкой исследований, приведших к открытию цАМФ (гл. 3). Именно этот эффект лежит в основе вызываемой гормоном острой гипергликемии; длительное повышение концентрации глюкозы в крови и поддержание ее на определенном уровне в периоды голодания зависят главным образом от стимулируемого глюкагоном глюконеогенеза, а также от ингибирования секреции инсулина. У некоторых видов (собака, кролик) адреналин стимулирует гликогенолиз через β_1-рецепторы, активируя фосфорилазу посредством системы цАМФ. У других (крыса) эффект гормона опосредуется α_1-рецепторами, Ca^{2+}, кальмодулином и стимуляцией кругооборота полифосфатидилинозитола. В обоих случаях конечным результатом является активация фермента, лимитирующего скорость процесса, а именно фосфорилазы.

Жировая ткань

Одна из самых крупных тканей-мишеней катехоламинов в организме — это жировая ткань, скопление которой формируют более или менее дискретные депо. Адреналин и норадреналин стимулируют в ней липолиз через β_1-адренергические рецепторы, которые через систему цАМФ активируют (т. е. фосфорилируют) «гормон-чувствительную» липазу триацилглицеролов. Свободные жирные кислоты (СЖК) и глицерол высвобождаются в кровь. Как будет отмечено в гл. 14, липолитическому эффекту адреналина и норадреналина способствует одновременное *ингибирование* ими секреции инсулина (через α-рецепторы). Действительно, инсулин, обладая антилиполитическим эффектом, может преодолевать липолитическое действие катехоламинов.

Жировые клетки (адипоциты) имеют как β_1-, так и α_2-рецепторы. Отношение β_1/α_2 варьирует не только в клетках одного типа от вида к виду, но и у отдельной особи от одного жирового депо к другому. Рецепторы α_2 и β_1-классов стимулируют поглощение глюкозы адипоцитами, но опосредуют *противоположное* действие на липолиз: α_2 — *анти*липолитический, а β_1 — липолитический эффект. Иными словами, катехоламины, действующие через α_2-рецепторы, являются в определенном смысле инсулиномиметиками. Чем выше отношение β_1/α_2, тем быст-

рее происходит кругооборот триацилглицеролов в адипоцитах и тем большее количество СЖК поступает в кровь. Возможное значение этих данных для патогенеза локального ожирения (преобладание β_1-рецепторов при отложении жира на животе и α_2-рецепторов при его отложении в области ягодиц и бедер) рассматривается в гл. 16.

Норадреналин, высвобождающийся в жировой ткани, не только непосредственно стимулирует липолиз, но и регулирует кровоток. Нельзя утверждать, что при всех обстоятельствах циркулирующий в крови адреналин мобилизует СЖК в большей степени, чем местно выделяющийся норадреналин. По-видимому, основную роль в регуляции липолиза между приемами пищи играет все же иннервация жировой ткани. Однако при более длительном голодании экспорт СЖК из жировых клеток обеспечивается совместным действием катехоламинов крови, глюкагона и пониженного уровня инсулина. При воздействии холода, как отмечалось выше, главным липолитическим стимулом служит местно высвобождаемый норадреналин.

Рост и деление клеток

Катехоламины можно считать своего рода ростовыми гормонами. Перечень тканей, в которых катехоламины вызывают гипертрофию и гиперплазию (деление клеток), постоянно увеличивается. Отметим, например, клетки околоушной железы, кишечных крипт, а также клетки, продуцирующие эритропоэтин. Кроме того, в условиях симпатической денервации не происходит компенсаторной гипертрофии одного из парных органов (например, яичника или коры надпочечника) при удалении второго. Особый интерес представляют клетки кишечных крипт, поскольку их рост стимулируется через α_2-рецепторы, а ингибируется через α_1- и β_2-рецепторы. Это свидетельствует о том, что на разных стадиях жизненного цикла, по мере миграции из крипты на поверхность, клетка может синтезировать рецепторы плазматической мембраны в различных соотношениях.

Механизмы стимуляции роста и деления клеток через рецепторы, снижающие уровень цАМФ, не известны. Однако было неоднократно показано, что высокие концентрации цАМФ *ингибируют* клеточное деление. Вероятно, существует какой-то смысл в том, что цАМФ уступает свою территорию тому или иному митогену.

Взаимодействие с другими гормонами

Выше уже упоминалось влияние ряда гормонов (особенно тиреоидных и глюкокортикоидов) на синтез и действие катехоламинов. Отмечался и стимулирующий эффект адреналина

и норадреналина на секрецию глюкагона и мелатонина, равно как и их ингибирующий эффект на секрецию инсулина. Говорилось и о тормозящем влиянии дофамина на секрецию альдостерона.

Катехоламины действуют и на многие другие гормон-продуцирующие клетки; в большинстве случаев они стимулируют секрецию через β-рецепторы. В некоторых клетках катехоламины, увеличивая содержание цАМФ, имитируют действие основного для этих клеток стимулятора. Примерами такого эффекта могут служить: 1) имитация действия тиреотропного гормона на фолликулярные клетки щитовидной железы; 2) стимуляция секреции кальцитонина К-клетками щитовидной железы; 3) стимуляция секреции паратгормона (основной стимулирующий фактор — низкая концентрация Ca^{2+}) (пункты 2 и 3 обсуждаются в гл. 17); 4) стимуляция секреции гастрина в желудке; 5) стимуляция секреции ренина (юкстагломерулярный аппарат); 6) стимуляция секреции эритропоэтина (почки).

Это перечисление подчеркивает, что, хотя в педагогических целях мы рассматриваем гормоны порознь, в интактном организме животного и человека между ними существуют сложные взаимодействия.

Клинические аспекты: отдельные примеры

Опухоли, продуцирующие катехоламины

Точно так же, как опухоли щитовидной железы могут продуцировать тиреоидные гормоны, а опухоли, возникшие из β-клеток поджелудочной железы, — инсулин, опухоли хромаффинной ткани — будь то в надпочечниках или в других органах — могут секретировать неадекватно большие количества катехоламинов. *Феохромоцитома* — опухоль, образованная хромаффинными клетками — диагностируется редко, но если это почти всегда смертельное заболевание удалось диагностировать, то оно поддается соответствующему лечению. Феохромоцитома обнаруживается менее чем у 0,1% больных гипертонией.

Часто, но не всегда феохромоцитома проявляется повторными приступами, или «атаками», характеризующимися головной болью, потливостью, сердцебиением, болями за грудиной, тревогой, бледностью и повышением артериального давления. У некоторых больных давление повышается только во время приступов. Если имеет место постоянная секреция избыточных количеств катехоламинов, то клиническая картина может напоминать гипертиреоз.

Диагноз феохромоцитомы устанавливается на основании определения свободных катехоламинов, метанефринов и 3-метокси-4-гидроксифенилуксусной кислоты в моче. В норме общая суточная экскреция катехоламинов с мочой составляет 20—100 мкг, а у больных с катехоламин-продуцирующими опухолями эта величина может достигать 300 мкг и более. Важно проводить дифференцированное определение адреналина и норадреналина, поскольку высокая концентрация адреналина указывает на опухоль надпочечников. Этим путем феохромоцитома диагностируется у 90% больных.

Если определение катехоламинов в моче дает сомнительные результаты или оно проводится у больных, экскретирующих между приступами нормальные количества катехоламинов, то опытный врач может прибегнуть к двум другим тестам: 1) *пробе с адренолитиками*, которая предполагает введение α-блокатора — фентоламина — и оценку его влияния на артериальное давление, и 2) *провокационной пробе*, позволяющей выяснить, повысится ли артериальное давление при введении гистамина, глюкагона или тирамина. Провокационные пробы опасны, а их результаты иногда трудно интерпретировать.

Лечение феохромоцитомы базируется на известных принципах физиологии и фармакологии катехоламинов. Применяется блокада α-рецепторов, но при этом возникает опасность тахикардии. Поэтому добавляют малые дозы β-блокаторов (пропранолол), что способствует снижению риска сердечных аритмий во время наркоза и операции. После исследований (ангиография, томография), имеющих целью определить локализацию опухоли, проводят операцию. Об эффективности последней судят по результатам серийных определений катехоламинов в моче и по динамике артериального давления.

Как хромаффинные клетки, так и клетки симпатических ганглиев образуются в эмбриогенезе из клеток зародышевого нервного гребешка, называемых *симпатогониями*. Последние служат предшественниками *симпатобластов* (из которых развиваются клетки симпатических ганглиев) и *феохромобластов* (дающих начало хромаффинным клеткам). Как уже отмечалось, из хромаффинных клеток может развиться феохромоцитома. Подобно этому, могут возникать и другие типы катехоламин-продуцирующих опухолей из клеток нервного гребешка (рис. 13-8):

1) из симпатобластов — симпатобластома;
2) из феохромобластов — феохромобластома;
3) из клеток симпатического ганглия — ганглионейрома.

Опухоли 1- и 2-го вида называют *нейробластомами*, а 3-го — *ганглионейромой*.

Эти типы опухолей встречаются у новорожденных и детей

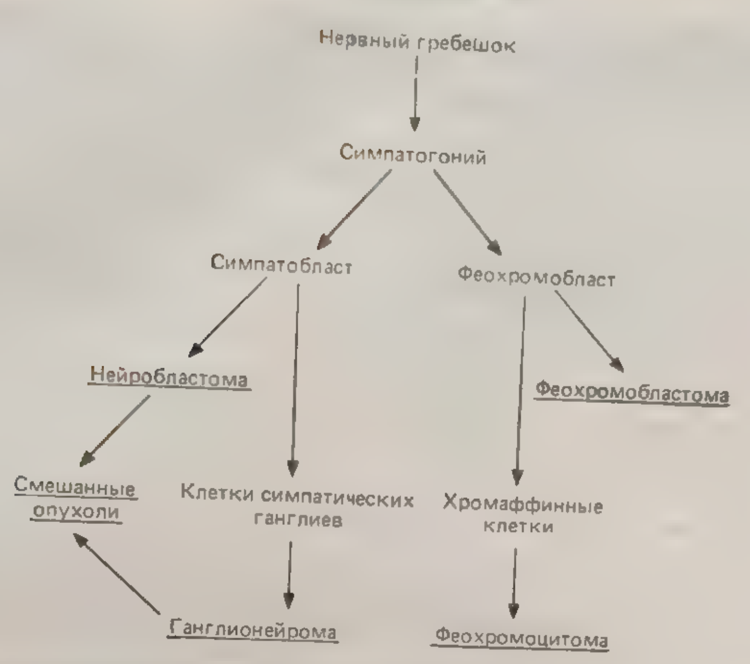


Рис. 13-8. Происхождение опухолей из клеток нервного гребешка.

и лишь редко — у молодых людей. Наиболее частым симптомом является диарея, тогда как гипертония отмечается лишь изредка. Причина диареи неизвестна и, поскольку этот симптом не характерен для других состояний с гиперкатехоламинемией, он может быть следствием секреции опухолью какого-то продукта, не являющегося катехоламином. Некоторые из таких опухолей, особенно у маленьких детей, рано метастазируют, но если метастазы не вышли за пределы брюшной полости, с ними иногда удается справиться хирургическим путем, с помощью облучения или химиотерапии.

Лечение таких больных опять-таки требует фундаментальных знаний в области метаболизма и экскреции катехоламинов. Главным средством диагностики остается определение катехоламинов в моче. Некоторые сведения об относительной злокачественности опухоли дает сравнение экскреции ДОФА и дофамина с экскрецией норадреналина и его метаболитов. Обычно более злокачественные опухоли продуцируют относительно больше «промежуточных» гормонов, тогда как те, которые вырабатывают очень мало ДОФА и дофамина, скорее всего, доброкачественны или менее злокачественны. И вновь определение катехоламинов в моче позволяет судить об эффективности лечения, будь-то хирургическое, радиологическое или химиотерапевтическое. Возобновление экскреции чрезмерно больших количеств катехоламинов с мочой свидетельствует о рецидиве опухоли.

Примеры использования адренергических агонистов и антагонистов в клинике

Уже отмечалось значение катехоламинов при депрессивных состояниях, болезни Паркинсона и опухолях, происходящих из клеток нервного гребешка. Эти соединения играют роль и в различных других ситуациях либо в качестве этиологических факторов, либо как основа лекарственной терапии, либо как диагностические агенты.

Существует огромная литература о роли симпатической нервной системы в возникновении *гипертонии.* Катехоламины связаны с регуляцией артериального давления двояким образом: 1) путем стимуляции системы ренин-ангиотензин-альдостерон и 2) путем стимулирующего действия на сердце и мелкие сосуды. Пропранолол — наиболее широко применяемый β-блокатор — занимает ведущее место среди антигипертензивных препаратов, используемых как для определения типа гипертонии, так и для лечения.

Катехоламины могут вызвать нарушения ритма сердца, особенно на фоне наркоза и хирургической операции. Учет этой возможности и применение соответствующих блокирующих агентов — важная сторона деятельности анестезиологов.

Стенокардией называют связанные с физической нагрузкой боли сердечного происхождения. Возникновение гипоксии миокарда и болей может обусловливаться положительным инотропным эффектом адреналина и норадреналина. Разумное применение пропранолола может ослабить стенокардию.

Связь между катехоламинами и *тиреотоксикозом* обсуждалась в гл. 10. В качестве дополнительного средства симптоматического лечения тиреотоксикоза с успехом используется β-блокада.

Неотложное введение катехоламинов может оказаться жизненно необходимым в различных ситуациях, включая *травматический шок, аллергические реакции на лекарственные вещества* и другие формы *недостаточности периферического кровообращения.*

Расширение бронхов под действием катехоламинов определяет применение этих веществ при *бронхиальной астме* как в острых, неотложных ситуациях, так и при длительном лечении этого заболевания.

Наконец, катехоламины, близкие к ним вещества и их производные являются составной частью огромного количества коммерческих средств от *насморка,* возникшего в результате *обычной простуды* (подробнее см. Weiner).

Литература[1]

Ahlquist R. P. (1948). A study of adrenotropic receptors, Am. J. Physiol., **153**, 586.

Axelrod J. (1972). Biogenic amines and their impact in psychiatry, Semin. Psychiatr., 4, 199.

Axelrod J., Weinshilboum R. (1972). Catecholamines, N. Engl. J. Med., 287, 237.

Baldessarini R. J. (1985). Drugs and the treatment of psychiatric disorders. In: Gilman A. G., Goodman L. S., Rall T. W., et al (eds.). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, ed. 7, New York, Macmillan Publishing Co, pp. 387—495.

Benovic J. L., Shorr R. G. L., Carson M. G. et al. (1984). The mammalian β_2-adrenergic receptor: Purification and characterization, Biochemistry, 23, 4510.

Blaschko H., Sayers G., Smith A. D. (eds.) (1975). Handbook of Physiology, Sect. 7, Endocrinology, vol. 6, Adrenal. Gland, Washington, DC, American Physiological Society.

Burgoyne R. D., Geisow M. J. (1981). Specific binding of ^{125}I-Calmodulin to and protein phosphorylation in adrenal chromaffin granule membranes, FEBS Lett, **131**, 127.

Carmichael S. W., Winkler H. (1985). The adrenal chromaffin cell, Sci. Am., August, 40.

Caron M. G., Cerione R. A., Benovic J. L. et al. (1985). Biochemical characterization of the adrenergic receptors: Affinity labeling, purification and reconstitution studies, Adv. Cyclic Nucleotide Protein Phosphorylation Res., **19**, 1.

Christensen N. J., Galbo H. (1983). Sympathetic nervous activity during exercise, Ann. Rev. Physiol., **45**, 139.

Ciaranello R. D. (1978). Regulation of phenylethanolamine N-methyl transferase synthesis and degradation: I. Regulation by rat adrenal glucocorticoids, Mol. Pharmacol., **14**, 478.

Creutz C. E., Pazoles C. J., Pollard H. B. (1978). Identification and purification of an adrenomedullary protein (synexin) that causes calcium-dependent aggregation of isolated chromaffin granules, J. Biol. Chem., **253**, 2858.

Davies A. O., Lefkowitz R. J. (1984). Regulation of β adrenergic receptors by steroid hormones, Ann. Rev. Physiol., **46**, 119.

Douglas W. W. (1975). Secretomotor control of adrenal medullary secretion: Synaptic, membrane, and ionic events in stimulus-secretion coupling. In: Blaschko H., Sayers G., Smith A. D. (eds.). Handbook of Physiology, vol. 6, Washington DC, American Physiological Society, pp. 376—388.

Eliasson K. (1984). Stress and catecholamines, Acta. Med. Scand., **215**, 197.

Elks M. L., Manganiello V. C. (1985). Effects of thyroid hormone on regulation of lipolysis and adenosine 3′, 5′-monophosphate metabolism in 3T3 L1 adipocytes. Endocrinology, **117**, 947.

Exton J. H. (1985). Mechanisms involved in α adrenergic phenomena, Am. J. Physiol., **248** (Endocrinol. Metab., 11), E633.

Fain J. N., García-Sáinz J. A. (1980). Role of phosphatidyl inositol turnover in Alpha_1 and of adenylate cyclase inhibition in Alpha_2 effects of catecholamines, Life Sci., **26**, 1183.

Geisow M. J., Burgoyne R. D. (1983). Recruitment of cytosolic proteins to a secretory granule membrane depends on Ca^{2+} Calmodulin, Nature, **301**, 432.

Kengsberg R. L., Trifaro J. M. (1985). Microinjection of Calmodulin antibodies blocks catecholamine secretion in response to stimulation, Neuroscience, **11**, 335.

[1] См. примечание на с. 40.

Kennedy M. F. G., Tutton P. J. M., Barkla D. H. (1983). Adrenergic factors involved in the control of crypt cell proliferation in jejunum and descending colon of mouse, Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., **10**, 577.

Knight D. E., Kesteren N. T. (1983). Evoked transient intracellular free Ca^{2+} changes and secretion in isolated bovine adrenal medullary cells, Proc. R. Soc. Lond. (Biol.), **218**, 177.

Lake C. R., Ziegler M. G. (eds.) (1985). The Catecholamines in Psychiatric and Neurologic Disorders, London, Butterworths.

Landsberg L., Young J. B. (1985). Catecholamines and the adrenal medulla, in Wilson J. D., Foster D. W. (eds.). Williams Textbook of Endocrinology, ed. 7, Philadelphia, W. B. Saunders Co.

Limbird L. E. (1983). Adrenergic receptors and regulation of adenylate cyclase activity: Methodological approaches and interpretation of data in terms of receptor-cyclase coupling. In: Agarwal M. K. (ed.). Principles of Recepterology (sic.), Berlin, W. de Gruyter., p. 593.

Maas J. W. (1975). Biogenic amines and depression: Biochemical and pharmacological separation of two types of depression, Arch. Gen. Psychiatry., **32**, 1357.

Manger W. M. (1982). Catecholamines in Normal and Abnormal Cardiac Function, Basel, S. Karger A. G.

Mendels J., Stern S., Frazer A. (1976). Biochemistry of depression, Dis. Nerv. Sys., **37**, 3.

Njus D., Kelley P. M., Harnadek G. J. (1985). The chromaffin vesicle: A model secretory organelle, Physiologist., **28**, 235.

Pollard H. B., Ornberg R., Levine M. et al. (1985). Regulation of secretion from adrenal chromaffin cells, Physiologist., **28**, 247.

Rubun R. P. (1970). The role of calcium in the release of neurotransmitter substances and hormones, Pharmacol. Rev., **22**, 389.

Schildkraut J. J., Kety S. S. (1967). Biogenic amines and emotion, Science, **156**, 21.

Schildkraut J. J. (1973). Norepinephrine metabolites as biochemical criteria for classifying depressive disorders and predicting response to treatment: Preliminary findings, Am. J. Psychiatry, **130**, 695.

Sibley D. R., Lefkowitz R. J. (1985). Molecular mechanisms of receptor desensitization using the β-adrenergic receptor-coupled adenylate cyclase system as a model, Nature, **317**, 124.

Smith U. (ed.) (1983). Adrenergic control of metabolic functions (symposium), Acta. Med. Scand., (Suppl.) **5**, 671—676.

Ungar A., Philips J. H. (1983). Regulation of the adrenal medulla, Physiol. Rev., **63**, 787.

Usdin E., Carlsson A., Dahlström A. et al. (ds.) (1984). Catecholamines, vol. 3. New York, Alan R. Liss.

Voorhess M. L., Gardner L. I. (1961). Urinary excretion of norepinephrine, epinephrine and 3-methoxy-4-hydroxymandelic acid by children with neuroblastoma, J Clin. Endocrinol., **21**, 321.

Wallace M. A., Fain J. N. (1985). Guanosine 5′-0-thiotriphosphate stimulates phospholipase C activity in plasma membrane of rat hepatocytes, J. Biol. Chem., **260**, 9527.

Weiner N. (1985) Norepinephrine, epinephrine, and the sympathomimetic amines. In: Gilman A. G., Goodman L. S., Rall T. W., et al. (eds). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, ed. 7, New York, Macmillan Publishing Co, pp. 145—180.

Часть VII

ОБМЕН ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ

Глава 14

Эндокринная функция поджелудочной железы

Некоторые хронологические вехи в изучении диабета и инсулина[1])

Дата		*Исследователи*
ок. 10 г. н. э.	Первое клиническое описание заболевания	Цельс (Celsus)
ок. 20 г. н. э.	Впервые предложен термин «диабет»	Аретий (Aretaeus)
ок. 1000 г.	Описаны осложнения «дегенеративной болезни»	Авиценна (Avicenna)
1679	Отмечен сладкий вкус мочи у больных, страдающих мочеизнурением	Томас Уиллис (Thomas Willis)
1788	Отмечено нарушение функции поджелудочной железы при диабете	Коули (Cowley)
ок. 1850 г. и далее	Предложены диетические ограничения для лечения диабета	Бучардат (Bouchardat), фон Ноорден (von Noorden), Наунин (Naunyn), Аллен (Allen) и др.
1869	Открыты островки поджелудочной железы	Лангерганс (Langerhans)
1870	Открыта «гликогенная» функция печени (у кроликов), гипергликемия при диабете	Бернар (Bernard)
1874	Описана одышка при диабетической ацетонемии	Куссмауль (Kussmaul)
1889	Описан экспериментальный диабет после панкреатэктомии (у собаки)	фон. Меринг (Von Mering), Минковский (Minkowski)
1895	Показана наследственная природа диабета; проведено различие между ювенильным диабетом и диабетом взрослых	Наунин (Naunyn)
1900	Обнаружены повреждения островковых клеток при диабете	Опи (Opie), Соболев, Стенгл (Stangle), Вайхсельбаум Weichselbaum)
1909	Гипотетический гормон островков назван «инсулином»	де Мейер (de Meyer)
1910—1920	Инсулин «почти» открыт	Цюльцер (Zuelzer), Скот (Scott), Ньюлтон (Knowlton) и др.
1921	Открыт инсулин (у собаки)	Бантинг и Бест (Banting, Best), Паулеско (Paulesco)

Продолжение

1923	Описано ослабление симптомов панкреатического диабета после гипофизэктомии (у жабы)	Хуссей (Houssay)
1925, ...	Открыты основные метаболические пути	Эмбден (Emden), Мейергоф (Meyerhof), Парнас (Parnas), Кори (Cori), Липман (Lipman), Кребс (Krebs), Диккенс (Dickens), Очоа (Ochoa), Лелуар (Lelour), Линен (Lynen) и др.
1936	Описано ослабление симптомов панкреатического диабета после адреналэктомии (у кошки)	Лонг (Long), Люкенс (Lukens)
1937	Путем введения экстрактов гипофиза у собак воспроизведен диабет	Янг (Young)
1955	Расшифрована структура инсулина	Сангер (Sanger)
1967, ...	Открыт проинсулин; установлена его структура	Стейнер (Steiner), Чанс (Chance)
1969, ...	Предложено новое понимание роли глюкагона	Унгер (Unger) и др.
1969, ...	Установлена трехмерная структура инсулина	Ходжкин (Hodgkin) и др.

[1]) По Best C. H. (1960). In: Williams R. H. (ed). Diabetes, New York, Paul B. Hoeber, Inc.

История изучения диабета, инсулина, его антагонистов, а также регуляции обмена веществ в организме (см. хронологическую таблицу) отражает по существу всю историю биологии и медицины. Инсулин, необходимый для синтеза и запасания углеводов, жиров и белков, служит одновременно и мощным терапевтическим средством; он неизменно привлекал внимание многих поколений исследователей. Установление первичной структуры инсулина — значительное событие в биологии (рис. 14-1). Оно сыграло решающую роль в разработке радиолигандных методов, перевооруживших современную эндокринологию. Открытие проинсулина можно считать важной вехой в исследовании биосинтеза белка. Позднее с помощью технологии рекомбинантных ДНК осуществлен синтез инсулина *E. coli*.

Инсулин

Химическая структура

Аминокислотная последовательность инсулина была впервые расшифрована Сангером (Sanger). Молекула инсулина состоит из двух аминокислотных цепей — А и В, соединенных двумя дисульфидными мостиками. Дополнительный дисульфидный мос-

A

Gly Ileu Val Glu Glu Cy Cy Ala Ser Val Cy Ser Leu Tyr Glu Leu Glu Asp Tyr Cy Asp

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21

(NH2 at 5, 12, 15, 18, 21; S—S between 6 and 11; S—S from A7 to B7 and from A20 to B19)

B

Phe Val Asp Glu His Leu Cy Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cy Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Ala

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30

Видовые различия в цепи A	8	9	10
Крупный рогатый скот	Ala	Ser	Val
Свинья	Thr	Ser	Ileu
Овца	Ala	Gly	Val
Лошадь	Thr	Gly	Ileu
Кит	Thr	Ser	Ileu
Кролик	Thr	Ser	Ileu
Человек	Thr	Ser	Ileu

Рис. 14-1. А- и В аминокислотные цепи инсулина. Структура инсулина у разных видов животных. (По Sanger F. (1960). Br. Med. Bull., 16, 183.)

тик соединяет два остатка цистеина (положения 6 и 11) в цепи A (рис. 14-1). S—S-мостики непосредственно не участвуют во взаимодействии инсулина с рецептором, но играют важную роль в формировании трехмерной структуры гормона, которая определяет его специфическое связывание с рецептором и биологическую активность (см. ниже).

Инсулин — это филогенетически древняя молекула. Вещество, взаимодействующее с антителами к инсулину и обладающее биологической активностью инсулина в жировых клетках млекопитающих, обнаружено у бактерий и дрожжей, однако функциональная роль его в этих организмах (если и существует) до сих пор неизвестна (Roth). Инсулин (сходный с таковым у млекопитающих) синтезируется β-клетками миксин, существующих уже 500 000 000 лет.

Проведенное Сангером межвидовое сравнение аминокислотных последовательностей инсулина положило начало новой науке — молекулярной эволюции. Инсулины, синтезируемые клетками разных видов животных, сходны по химической структуре; например, инсулины человека и свиньи различаются одной аминокислотой в 30-м положении B-цепи. С другой стороны, инсулин морской свинки (эволюционировавшей в Южной Америке) отличается от человеческого 17-ю аминокислотными остатками. Важно отметить, что молекулы всех инсулинов обладают общим высококонсервативным участком, включающим область связывания рецептора (см. ниже описание трехмерной структуры).

В течение многих десятилетий единственным источником инсулина служили поджелудочные железы крупного рогатого скота, свиней и овец. Однако несмотря на то, что усовершенствованные методы экстракции обеспечивают получение высокоочищенных препаратов инсулина, практически у всех больных диабетом, принимающих бычий или овечий инсулины, образуются антитела к этому гормону. В то же время свиной инсулин незначительно отличается от человеческого, поэтому он обладает меньшей антигенной активностью, чем инсулины других видов животных, и предпочтительно используется для заместительной терапии.

Инсулин синтезирован de novo из отдельных аминокислот, но этот метод весьма дорог. Инсулин человека можно получить двумя путями: 1) удаляя аминокислоту аланин из B-цепи (положение 30) свиного инсулина и заменяя ее на треонин, и 2) с помощью технологии рекомбинантных ДНК, которая ранее была успешно применена для получения соматостатина. Двум группам ученых удалось синтезировать таким образом инсулин. Одни исследователи (Villa-Komaroff et al.) встроили ген проинсулина (см. ниже) в *E. coli*, выделили проинсулин из

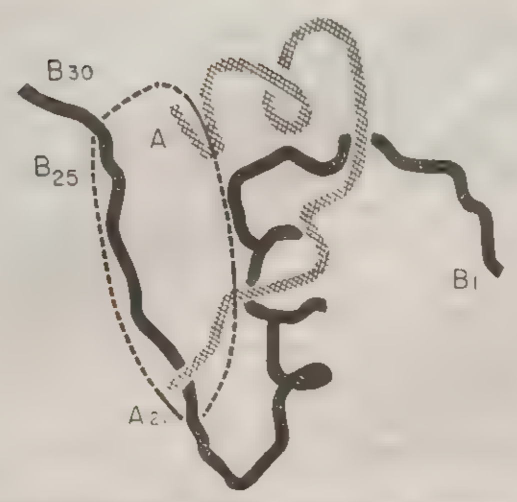


Рис. 14-2. **Расположение А и В-цепей в мономере инсулина. Домен, взаимодействующий с рецептором, очерчен** пунктиром (см. Hodgkin).

культуральной среды и получили инсулин путем протеолитического расщепления. Другие (Goeddel et al.) химически синтезировали гены А- и В-цепей инсулина, встроили их в разные клетки *E. coli*, получили отдельные цепи и путем окисления связали их S—S-мостиками. Инсулин, полученный последним способом, а также модифицированный свиной инсулин, с успехом применяются для лечения больных с инсулинозависимым диабетом.

Трехмерная структура инсулина

В 1969 г. Ходжкин и др. (Hodgkin et al.) в Оксфорде на основании рентгеноструктурного анализа кристаллов свиного 2-цинк-инсулина предложили трехмерную модель молекулы инсулина. (Та же структура независимо была описана китайскими исследователями из Пекина. Вместе с японскими авторами исследователи обеих групп продолжали уточнять ее.) Построение трехмерной модели молекулы инсулина (впервые для белковых гормонов) позволит в будущем точно описать взаимодействие инсулина с его рецептором на молекулярном уровне.

Инсулин может существовать в виде мономера (рис. 14-2), димера или гексамера (3 димера). С помощью электронной микроскопии показано, что у некоторых видов животных инсулин хранится в секреторных гранулах именно в форме кристаллов, образованных гексамерами. Анализ инсулинов у разных видов (см. Hodgkin) установил, что наиболее консервативные аминокислоты — это A1, A19, A20, A21, а также B23, B24 и B25. При этом (как показано на рис. 14-2) все эти консервативные остатки группируются на одной стороне молекулы. Именно эта область и взаимодействует с рецептором инсулина, что позволяет понять, почему клетки животных разных видов

реагируют на инсулины даже филогенетически отдаленных организмов.

Отщепление *пяти* концевых аминокислот В-цепи (В26—В30) не снижает биологической активности инсулина. Отщепление *шести* аминокислот (В25—В30) приводит к падению связывания с рецептором примерно до 2% от исходного, но сохраняет 40% биологической активности гормона. При отщеплении *еще одной аминокислоты* (В24—В30) молекула перестает связываться с рецептором и запускать биологическую реакцию.

Тот факт, что связывание с рецептором и инициация биологической реакции могут изменяться в разной степени, позволило некоторым авторам предположить, что одна или несколько близко расположенных аминокислот направляют инсулин к месту его связывания с рецептором («адресный фрагмент»), тогда как другие аминокислоты, располагаясь при связывании соответствующим образом (даже если связывающая способность рецептора реализуется далеко не полностью), запускают биологическую реакцию (см. Zhang).

Приведенные данные уже нашли практическое применение. Так, Ханеда и др. (Haneda et al.) описали новый синдром — семейную гиперинсулинемию, обусловленную заменой определенных аминокислот в В-цепи инсулина (В24 или В25). У членов таких семей отмечается легкая гипергликемия, поскольку нарушена нормальная реакция на эндогенный инсулин. Однако на экзогенный инсулин эти больные реагируют нормально.

Другим интересным следствием работ Сангера можно считать выяснение нуклеотидной последовательности гена проинсулина человека (Bell et al.) и его локализации в дистальном участке короткого плеча 11 хромосомы (Harper et al.).

Препараты инсулина

Широкое использование инсулина для лечения больных диабетом обусловило создание многих препаратов, обеспечивающих поступление гормона в кровь с различной скоростью. Характеристика некоторых из этих препаратов приведена в табл. 14-1. Хотя разработчики препаратов надеялись, что в соответствующей комбинации эти препараты полностью удовлетворят потребности каждого больного, эта надежда оправдывается далеко не всегда (см. ниже разделы о лечении диабета и экспериментальных системах введения инсулина).

Биосинтез: проинсулин и препроинсулин

В 1967 г. Стейнер (Steiner) сообщил, что радиоактивный лейцин, добавленный in vitro к срезам инсулин-продуцирующей опухоли человека, в первую очередь включается в более

Таблица 14-1. Классификация препаратов инсулина[1]

Эффект	Препарат	Пик активности, ч
Кратковременный	Обычный кристаллический	2—4
	Семиленте	2—4
Промежуточный	NPH (изофан)	6—12
	Ленте	6—12
Длительный	Протамин-цинк	14—24
	Ультраленте	18—24

[1]) По Bressler R., Galloway J. A. (1971). Ration. Drug Ther., 5, 5. (Использовано с разрешения.)

крупный, чем инсулин, белок, а уже затем — в собственно инсулин. Впоследствии из изолированных островков Лангерганса поджелудочной железы крысы (рис. 14-3) был выделен белок-предшественник, получивший название проинсулина. Вскоре после этого Чанс и др. (Chance et al.) установили аминокислотную последовательность свиного проинсулина (рис. 14-4). В настоящее время выяснена первичная структура и других проинсулинов, в том числе проинсулина человека. Соединительные пептиды (СП) проинсулинов разных видов животных, как правило, более вариабельны, чем соответствующие инсулины.

При изучении синтеза проинсулина в бесклеточных белоксинтезирующих системах был открыт еще более крупный белок, названный *пре*проинсулином. В этой молекуле на N-конце проинсулина имеется еще пре-последовательность. Таким образом, структуру препроинсулина можно представить следующим образом: пре — В-цепь — соединительный пептид — А-цепь. Считают, что пре-последовательность направляет образующуюся молекулу проинсулина в просвет эндоплазматического ретикулума через его мембрану. Аналогичная последовательность обнаружена и в других секретируемых белках (см. гл. 17). Более полно эта проблема освещена в Бантинговской лекции Стейнера.

При восстановлении дисульфидных связей проинсулина (т. е. превращении S—S-групп в SH-группы) последующее спонтанное окисление этого белка приводит почти к полной регенерации исходного проинсулина. Если же такой эксперимент провести с инсулином, то вновь получить нативный инсулин практически не удается. Это указывает на то, что соединительный пептид нужен для такого расположения А- и В-цепей, при котором могут образоваться дисульфидные связи, необходимые для правильного соединения этих цепей.

Для изучения синтеза, процессинга и запасания гормона в β-клетках применяют методы импульсного мечения белков

радиоактивными аминокислотами, количественной электронно-микроскопической радиоавтографии и иммуноцитохимии. Позднее, с помощью высокоспецифических моноклональных антител к проинсулину (полученному методом рекомбинантных ДНК) Орци и др. (Orci et al.) удалось проследить судьбу проинсулина в клетке с момента его синтеза в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме до накопления в секреторных гранулах, предназначенных к экзоцитозу.

Проинсулин («пре»-последовательность быстро отщепляется) накапливается в незрелых (т. е. окаймленных клатрином) гранулах уже в первые 10 мин после импульсного введения ^{3}H-лейцина, т. е. примерно за 20 мин до его обнаружения в зрелых (т. е. неокаймленных) гранулах. По мере того как окаймленные гранулы проходят через аппарат Гольджи, практически весь проинсулин превращается в инсулин и соединительный пептид под действием внутригранулярной трипсиноподобной тиоловой протеазы, которая вырезает соединительный пептид, как показано на рис. 14-4 (Doherty et al.). Инсулин и соединительный пептид хранятся и высвобождаются при экзоцитозе в стехиометрических количествах. В зрелых гранулах процессинг практически не происходит. Секретируемые белки как бы помечены «только на экспорт». Мембраны секреторных пузырьков (гранул) в процессе секреции сливаются с плазматической мембраной клетки, а их содержимое высвобождается во внеклеточное пространство.

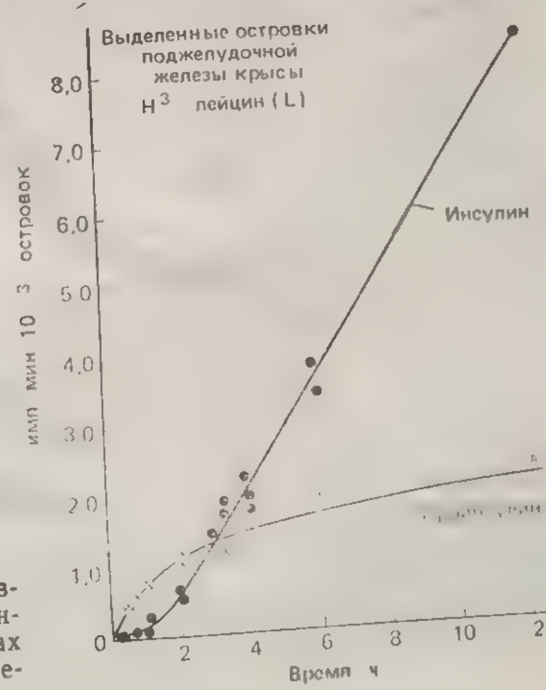


Рис. 14-3. Включение радиоактивного лейцина в проинсулин и инсулин в изолированных островках Лангерганса крыс. (Любезно предоставлено Д. Стейнером.)

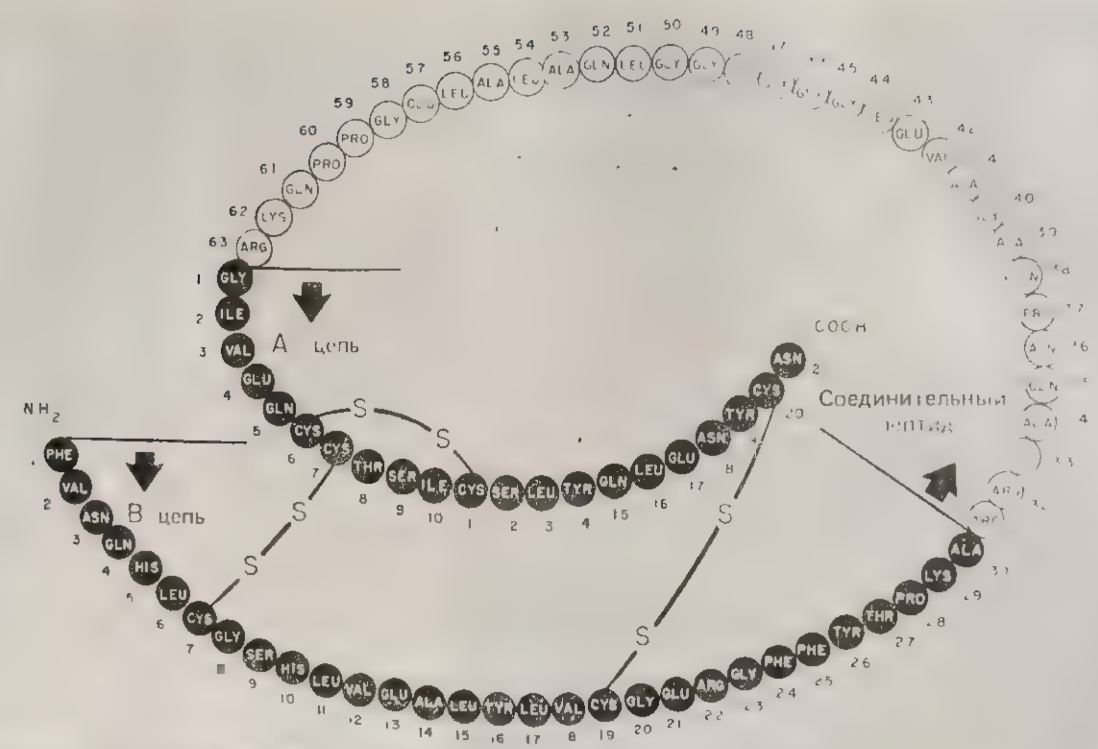


Рис. 14-4. Структура проинсулина и инсулина: первичная структура свиного проинсулина. Аминокислоты инсулина отмечены темными кружками, соединительного пептида — светлыми. (Из Show W. H., Chance R. E. (1968) Diabetes, 17, 37. Воспроизведено с разрешения.)

Результаты фундаментальных исследований биосинтеза инсулина быстро нашли практическое применение (Robbins et al.). Радиоиммунологический метод определения соединительного пептида позволяет оценивать способность β-клеток реагировать на глюкозу даже у тех больных диабетом, которые получают экзогенный инсулин. При этом выяснилось, что многие из таких больных, страдающих особенно трудно компенсируемым («лабильным») диабетом, практически не реагируют повышением секреции соединительного пептида на введение глюкозы. Кроме того, было открыто новое заболевание — семейная гиперпроинсулинемия, при которой в крови больных концентрация проинсулина резко увеличена. Проинсулин человека по сравнению с проинсулином свиньи более устойчив к действию трипсина.

Регуляция биосинтеза проинсулина

Глюкоза, манноза и *лейцин* — мощные стимуляторы синтеза проинсулина и секреции инсулина. Таким образом, в норме процессы синтеза и секреции обычно сопряжены, но это не означает, что они регулируются одними и теми же внутриклеточными сигналами, поскольку секреторную реакцию можно вызвать в условиях блокады синтеза, и наоборот. Более того, пороговая концентрация глюкозы, необходимая для стимуляции синтеза проинсулина, примерно вдвое меньше той, которая требуется для стимуляции секреции (4—6 ммоль).

К другим стимуляторам синтеза относятся *гормон роста,* а также *глюкагон* (и близкие к нему гормоны), которые повышают уровень цАМФ. Глюкагон или дб-цАМФ стимулируют синтез проинсулина только в присутствии глюкозы. В то же время синтез проинсулина *ингибируется* адреналином (который снижает как уровень, так и эффект цАМФ в секретирующих клетках) и производными сульфонилмочевины (см. ниже), усиливающими секрецию инсулина по крайней мере в первую фазу ответной реакции на глюкозу.

Механизмы, посредством которых глюкоза стимулирует (а цАМФ облегчает) транскрипцию гена проинсулина, неизвестны. Можно сказать лишь, что для проявления эффекта глюкоза должна метаболизироваться (действительно, некоторые промежуточные метаболиты глюкозы также стимулируют синтез проинсулина, хотя и слабее, чем сама глюкоза). Остается гадать, формируется ли стимулирующий сигнал изменением окислительно-восстановительного потенциала НАД(Ф)·Н : НАД(Ф) или энергетического заряда (АТФ : АДФ : АМФ), возникающим при окислении глюкозы.

Постоянный (высокий или низкий) уровень синтеза проинсулина может сохраняться довольно долго (дни и недели). Это связано либо с увеличением, либо с уменьшением количества β-клеток. Синтез проинсулина заметно *снижается* при голодании или низком содержании углеводов и высоком содержании жиров в пище; он *увеличивается* при потреблении пищи с высоким содержанием углеводов, экспериментальном и клиническом ожирении, беременности и в условиях хронического избытка гормона роста. Увеличение синтеза проинсулина при беременности обусловлено, возможно, повышенным потреблением пищи (включая углеводы) или высоким уровнем соматомаммотропина (плацентарного гормона роста), что может вызвать гипергликемию и глюкозурию.

Секреция инсулина

Панкреатическая β-клетка может служить эталоном клеток, синтезирующих пептидные гормоны или амины и запасающих их в электроноплотных секреторных гранулах в готовой для секреции форме. Действительно, тонкие исследования ультраструктуры именно β-клеток внесли существенный вклад в создание такого эталона. К β-клеткам применима общая модель стимуляции секреции, согласно которой непосредственным стимулом секреторного процесса, независимо от инициирующего фактора, служат ионы Ca^{2+} (Daylas). Эксперименты с ингибиторами микротрубочек (например, колхицином) свидетельствуют об участии последних в секреции как инсулина, так и многих других гормонов.

Появление радиоиммунологических методов обусловило возможность поминутной оценки секреторной активности β-клеток (а также α- и Δ-клеток). У интактных животных и человека внезапные изменения концентрации гормона почти всегда обусловлены изменением скорости его секреции, судя по тому, что возникают слишком быстро, чтобы определяться изменением скорости элиминации гормона. Секрецию гормона можно изучать на перфузируемой поджелудочной железе мелких животных (крыса), изолированных островках в инкубационных сосудах и перфузируемых изолированных островках, помещенных на пористую подложку с непрерывной капельной подачей соответствующей жидкости и автоматическим сбором фракций перфузата. Независимо от того, изучается ли секреторная активность β-клеток в ответ на действие глюкозы в организме человека или в перфузируемом препарате панкреатических островков крысы, характер реакции остается постоянным: 1) в первые 2—5 мин после стимуляции отмечается резкое повышение секреции гормона; 2) при длительной стимуляции

глюкозой концентрация инсулина в крови или перфузате увеличивается постепенно. При этом первая фаза секреции не требует синтеза белка, однако более длительная вторая фаза со временем становится все более зависимой от белкового синтеза.

Протекание секреторной реакции в две фазы предполагает, что в β-клетке существуют легко и трудно мобилизуемый пулы инсулина. По-видимому, некоторые гранулы располагаются в ожидании секреции непосредственно у плазматической мембраны, тогда как другие должны еще переместиться из глубины клетки, а третьи содержат только что синтезированный гормон. В любом случае ответная секреторная реакция β-клетки на действие глюкозы, в том числе и в культуре, протекает в две фазы.

Сопряжение между стимулом и секрецией в β-клетке

Несмотря на многочисленные эксперименты, механизмы действия глюкозы на секрецию инсулина изучены недостаточно. (Вероятно, это справедливо и для большинства других проблем, рассматриваемых в настоящей книге.)

β-Клетка является сенсором глюкозы точно так же, как термостат — сенсором тепла. Когда температура в помещении растет, включается кондиционер, снижающий ее. Когда в крови увеличивается концентрация глюкозы, секретируется инсулин, чтобы восстановить ее исходную равновесную концентрацию. Одно время некоторые исследователи считали, что основной датчик, регистрирующий уровень глюкозы, локализован в плазматической мембране. Однако в настоящее время большинство авторов полагают, что прежде, чем вызвать секрецию инсулина, глюкоза (или манноза) в β-клетке должна окислиться. Долгие поиски конкретного промежуточного метаболита глюкозы, активирующего секреторный процесс, привели к созданию множества гипотез, но не установили истину. Каждая из этих гипотез в чем-то может быть правомерной.

Метаболизм глюкозы в β-клетке протекает своеобразно: подобно клетке печени, β-клетка содержит высокоспецифичную глюкокиназу и менее специфичную (и меньшей мощности) гексокиназу. Из-за отсутствия фруктозо-1,6-бисфосфатазы глюконеогенез в β-клетке невозможен. Однако поскольку она содержит фосфоенолпируваткарбоксикиназу (ФЕП-КК), то при окислении глюкозы по гликолитическому пути Эмбдена — Мейергофа в β-клетке накапливается большое количество фосфоенолпирувата. По-видимому, он в качестве сигнала принимает участие в механизме стимуляции секреции инсулина (Hedeskov).

Помимо фосфоенолпирувата, найдено еще несколько потенциальных сигналов, генерируемых при окислении глюкозы. К ним относятся сдвиг окислительно-восстановительного потенциала [возрастание отношения НАД(Ф)·Н : НАД(Ф)], увеличение доступности АТФ и смещение pH в кислую сторону. Имеются веские доказательства возможной роли каждого из этих факторов в секреции инсулина, происходящей под действием глюкозы.

Некоторые реакции или их сочетания, связанные с окислением глюкозы в β-клетке, приводят и к активации аденилатциклазы, вызывая увеличение уровня цАМФ; повышают концентрацию ионов Ca^{2+} в цитозоле и активируют кругооборот полифосфатидилинозитола с образованием инозитолполифосфатов и диацилглицерола. Имеются надежные доказательства участия кальмодулина в секреции инсулина, а для перемещения гранул необходимы как агрегация тубулина в микротрубочки, так и сокращение микрофиламентов. Активация системы фосфатидилинозитола-4,5-бисфосфата в этом случае — реакция уникальная, поскольку она обусловливается окислением глюкозы, а не (как обычно) привычными изменениями плазматической мембраны. (Такие изменения имеют место, но под действием *другого* стимулятора секреции инсулина — ацетилхолина, который через мембранный рецептор тоже активирует кругооборот фосфатидилинозитола-4,5-бисфосфата). Далее цАМФ, Ca_4-кальмодулин и протеинкиназа С должны принимать участие в фосфорилировании многих регуляторных белков и приводить к повышению $[Ca^{2+}]_ц$ и экзоцитозу. До сих пор среди субстратов фосфорилирования удалось идентифицировать только тубулин (фосфорилирование способствует его агрегации в микротрубочки), связанный с микротрубочками белок и миозинкиназу (необходимую для сокращения микрофиламентов). Вероятно, ионы Ca^{2+} оказывают и прямые эффекты, т. е. не опосредованные кальмодулином.

Значительное количество глюкозы (до 25% от максимального) может окисляться в β-клетке не вызывая стимуляции секреции инсулина. Только после превышения этого порога наблюдается *резкое* увеличение секреции гормона. Именно поэтому фруктоза, которая фосфорилируется гексокиназой так медленно, что не достигается этот порог скорости окисления, сама по себе не стимулирует секрецию инсулина. Однако фруктоза может подкреплять глюкозный сигнал, так как действие ее метаболитов, изменений окислительно-восстановительного потенциала, уровня АТФ и др., возникающее с подпороговой скоростью, суммируется с эффектами глюкозы. Иными словами, предварительное воздействие фруктозы повышает чувствительность β-клетки к глюкозе.

При описании стимуляции биосинтеза и секреции альдостерона ангиотензином II (гл. 12) упоминались эксперименты группы Расмуссена, свидетельствующие о главной роли Ca_4-кальмодулина на *ранней* стадии секреторной реакции и протеинкиназы С, сенсибилизированной диацилглицеролом, — на *длительной*. Те же исследователи (см. Zawalich) провели аналогичные опыты по стимулируемой глюкозой секреции инсулина и пришли к аналогичному заключению с тем лишь добавлением, что для воспроизведения раннего и позднего эффектов глюкозы (с помощью препаратов сульфонилмочевины и диацилглицеролоподобного форболового эфира соответственно) необходимо еще повысить продукцию цАМФ (например, форсколином).

В данном случае, как и в большинстве других, когда секреция осуществляется путем экзоцитоза секреторных гранул, основным вторым посредником служат ионы Ca^{2+}. Полагают, что экзоцитоз обусловливается избирательным фосфорилированием белков гранулярной мембраны, микрофиламентов и микротрубочек и, возможно, белков внутренней мембраны (см. описание секреторной активности клеток мозгового слоя надпочечников, гл. 13). Природа этих белков, их функции, и какие из протеинкиназ ответственны за их фосфорилирование — все это вопросы, которые еще предстоит решить.

Глюкагон

Всего лишь через два года после открытия инсулина Марлин и др. (Murlin et al.) описали гипергликемический эффект водных экстрактов поджелудочной железы. Много лет вещество, вызывающее такой эффект, было известно как «гипергликемический-гликогенолитический фактор». Работы по глюкагону оставались в тени шумных успехов изучения инсулина, и только в конце 1950-х годов, когда удалось очистить глюкагон и расшифровать его структуру, этот гормон привлек внимание широкого круга исследователей. Первые радиоиммунологические методы определения глюкагона не позволяли дифференцировать панкреатический глюкагон и энтероглюкагон (кишечный глюкагон), образующийся в желудочно-кишечном тракте. Оба белка имеют ряд общих аминокислотных последовательностей, однако молекула энтероглюкагона отличается бóльшими размерами. Получение высокоспецифических антител к панкреатическому глюкагону (Unger) и центральная роль глюкагона в изучении функции циклических нуклеотидов в 60-х годах позволили по-настоящему оценить его значение.

Химическая структура

Глюкагон (мол. масса 3485) представляет собой пептид, состоящий из 29 аминокислот. Аминокислотная последовательность глюкагона большинства видов млекопитающих одинакова. Глюкагон и три гормона желудочно-кишечного тракта — секретин, вазоактивный интестинальный пептид (ВИП) и желудочный ингибиторный пептид (ЖИП) — имеют гомологичные аминокислотные последовательности, в частности, общие аминокислотные остатки в положениях 6, 10, 13, 14, 19, 22, 23, 25, 26 и 27. Однако, хотя все эти гормоны имеют некоторые общие свойства (например, потенцируют стимулирующее влияние глюкозы на секрецию инсулина β-клетками), между ними существуют и различия. Синтезированы многие аналоги глюкагона, в том числе и конкурентно ингибирующие эффект природного гормона. Глюкагон накапливается в секреторных гранулах в виде кристаллического тримера.

На основании изучения синтетических аналогов было установлено, что для связывания с рецептором и активации аденилатциклазы наиболее важны N-концевая и центральная части молекулы. Кроме того, необходим тирозин в положениях 10 и 13. Исследования Родбелла и сотр. (Rodbell et al.) по рецепторному связыванию глюкагона и активации им аденилатциклазы можно считать фундаментальным вкладом в развитие современных общих представлений о рецепторно-аденилатциклазном комплексе (см. гл. 3).

Биосинтез и секреция

Подобно инсулину, глюкагон образуется путем протеолиза из прогормона, который в свою очередь входит в состав еще более крупного препрогормона. Вскоре после синтеза препрогормона в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме препоследовательность отщепляется с образованием прогормона *глицентина* (рис. 14-5). В гранулах глицентин подвергается протеолизу на амино-концевой пептид, называемый глицентин-связанным панкреатическим пептидом, или ГСПП (1—30), ГЛЮКАГОН [(1)—(29)], обозначенный на рис. 14-5 прописными буквами, и карбокси-концевой гексапептид. При исследовании гранул с помощью флуоресцирующих антител, специфичных по отношению к глицентину и глюкагону, первый пептид обнаруживается главным образом вблизи гранулярной мембраны, а второй — в центре гранулы. При стимуляции секреторной активности α-клеток в кровь путем экзоцитоза выделяется небольшое количество глицентина и гораздо больше продуктов его протеолиза. Биологическая функция ГСПП и концевого

гексапептида не известна. У лиц с опухолью α-клеток (глюкагономой) и при очень редком состоянии, называемом семейной гиперглюкагонемией, концентрация глицентина в крови превышает норму.

Биосинтез, процессинг, упаковка, хранение глюкагона и инсулина происходят сходным образом. Кристаллы глюкагона в α-клетках плотно упакованы. Они имеют форму равностороннего треугольника, на каждой стороне которого находится линейная последовательность 1—29.

Привыкнув к мысли, что ионы Ca^{2+} опосредуют экзоцитоз в β-клетках, а также в клетках других типов, трудно себе представить, что те же ионы Ca^{2+} могут и *ингибировать* секрецию (Malaisse). Глюкоза, стимулирующая секрецию инсулина, ингибирует секрецию глюкагона. Для возникновения ответной реакции как в β-, так и в α-клетках необходимо окисление глюкозы, причем в обоих случаях метаболизм глюкозы приводит к повышению внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+}. Однако в α-клетках увеличение $[Ca^{2+}]$ блокирует секрецию глюкагона. Но это не покажется столь странным, если мы вспомним, что и в других случаях (например, при секреции паратгормона, см. гл. 17) повышение $[Ca^{2+}]$ сопряжено с ингибированием секреции. Удовлетворительного объяснения этого парадоксального эффекта ионов Ca^{2+} пока не существует.

Группа клеток, расположенных в верхней части желудочно-кишечного тракта, секретирует не отличимое от панкреатического глюкагона вещество, которое флуоресцирует при взаимодействии со специфическими антителами к панкреатическому глюкагону. У животных некоторых видов (например, собаки) при введении аргинина в крови обнаруживается повышенная

```
                                 10
1
Arg-Ser-Leu-Gln-Asn-Thr-Glu-Glu-Lys-Ser-Arg-Ser-Phe-Pro-Ala-
                                                         30
                  20
Pro-Gln-Thr-Asp-Pro-Leu-Pro-Asp-Pro-Asp-Gln-Met-Thr-Glu-Asp-
                                  40
       (1)
Lys-Arg-HIS-SER-GLN-GLY-THR-PHE-THR-SER-ASP-TYR-SER-LYS-TYR-
                                                         60
                  50
LEU-ASP-SER-ARG-ARG-ALA-GLN-ASP-PHE-VAL-GLN-TRP-LEU-MET-ASN-
                              69
(29)
THR-Lys-Arg-Asn-Lys-Asn-Asn-Ile-AlaCOOH
```

Рис. 14-5. Аминокислотная последовательность свиного глицентина (1—69), включающего последовательность ГЛЮКАГОНА [(1)—(29)]; показаны места протеолитического выщепления Lys-Arg. (По Thim L., Moody A. J. (1981). Regul. Pept., 2, 139.)

концентрация глюкагона, который высвободился из α-клеток именно желудочно-кишечного тракта. Однако у человека физиологическое значение этих клеток не установлено.

Метаболизм и клиренс

В крови обнаруживается множество различных пептидов, связывающихся антителами к глюкагону. К этим пептидам относятся: 2,0 К (вероятно, продукт распада), 3,5 К (мономер глюкагона), 9,0 К (глицентин) и гораздо более крупные структуры, которые могут представлять собой полимеры глюкагона или его мономеры, ассоциированные с высокомолекулярными белками крови.

Печень (путем эндоцитоза) поглощает примерно третью часть введенной дозы меченого глюкагона, связанного с рецептором. Поглощаемый печенью гормон — это в основном мономер (3,5 К). С другой стороны, почки экстрагируют из крови преимущественно пептид 9,0 К. При почечной недостаточности концентрация глицентина в крови значительно повышается.

Биологическое действие

Глюкагон воздействует главным образом на печень, где немедленно стимулирует гликогенолиз, а спустя более продолжительное время — глюконеогенез и кетогенез. Очищенный рецептор глюкагона из печени крысы и человека представляет собой гликопротеин с мол. массой 60 000. Глюкагон взаимодействует с рецептором и активирует аденилатциклазу через G_c-белок (см. гл. 3), увеличивая продукцию цАМФ. Биологические эффекты глюкагона, как правило, объясняют активацией цАМФ-зависимой протеинкиназы, но на современном этапе, когда выявляется все больше вторых посредников, это можно считать чрезмерным упрощением ситуации. Глюкагон способствует расщеплению не только гликогена, но также белков и триацилглицеролов. Он ингибирует синтез белка и стимулирует активность лизосом. Глюкагон стимулирует липолиз, вызывая фосфорилирование и тем самым активацию триацилглицероллипазы («гормон-чувствительной»), а также сильно ингибирует липогенез (см. ниже). В условиях пониженного окисления глюкозы, что часто сопровождает действие глюкагона (см. ниже), это приводит к кетогенезу.

Глюкагон — один из основных физиологических антагонистов инсулина — особенно эффективен при дефиците последнего. С другой стороны, часто не удается обнаружить биологических эффектов инсулина на печень, если она не подвергается воздействию глюкагона. Подробнее взаимодействие между инсулином и глюкагоном рассматривается ниже.

Глюкагон — довольно эффективный гормон; его концентрация в крови измеряется *пико*граммами на мл (10^{-12} М). В дозе всего 0,01 мкг он вызывает интенсивный гликогенолиз в изолированной перфузируемой печени. В отличие от этого молярная концентрация адреналина, необходимая для воспроизведения сравнимого эффекта, в 30—50 раз выше той, которая создается в крови после инсулиновой гипогликемии. Это не исключает роли катехоламинов в усилении гликогенолиза, поскольку они могут одновременно стимулировать секрецию глюкагона и ингибировать секрецию инсулина.

В реакциях α- и β-клеток на стимуляцию аминокислотами имеются как сходства, так и различия. Аргинин и лейцин стимулируют секреторную активность обоих типов клеток, но аланин — основной субстрат глюконеогенеза — избирательно стимулирует секрецию глюкагона, но *не* инсулина. Это представляется целесообразным, поскольку в крови при голодании в основном обнаруживается аланин. (Кстати, глюкокортикоиды, секреция которых при голодании возрастает, сенсибилизируют α-клетки к стимулирующему эффекту аланина.)

Соматостатин

История открытия соматостатина (соматотропин-рилиз-ингибирующего гормона — СРИГ), его структура, распределение в тканях и синтез в Δ-клетках островков поджелудочной железы описаны в гл. 5. Короткий период полураспада (около пяти минут) и отсутствие надежных методов определения концентрации соматостатина в плазме крови ограничивают исследования на интактных людях и животных. Большинство данных о секреции соматостатина получено в экспериментах на изолированных островках или перфузируемой поджелудочной железе.

Как правило, стимуляторы секреции инсулина, включая глюкагон и препараты сульфонилмочевины (см. ниже), повышают и секрецию соматостатина. Как отмечалось в гл. 5, соматостатин ингибирует секрецию не только инсулина и глюкагона, но и многих других гормонов (помимо гормона роста, с регуляцией секреции которого его связывали вначале). Для объяснения ингибирующего эффекта соматостатина на секреторные процессы предложено только два механизма: 1) блокада действия цАМФ (по-видимому, соматостатин не влияет на этап образования цАМФ при стимуляции) и 2) торможение транспорта ионов Ca^{2+} (Griffey et al.).

Поскольку соматостатин ингибирует секрецию и инсулина и глюкагона, то он стал *широко использоваться для изучения метаболических процессов.* Полагают, что введение либо инсу-

лина, либо глюкагона человеку или животному на фоне соматостатиновой блокады позволяет оценить относительный вклад каждого из этих гормонов в определение состояния, существовавшего до блокады. Например, является ли кетоз следствием дефицита инсулина, избытка глюкагона или сочетания того и другого? Или, ставя вопрос иначе: необходим ли глюкагон для полного проявления дефицита инсулина?

Типичным примером эффектов соматостатиновой блокады служат данные Гериха и др. (Gerich et al.), согласно которым диабетический кетоацидоз у человека можно предотвратить или ликвидировать соматостатином. В других исследованиях соматостатин снижал гипергликемию при диабете. Хотя эффект соматостатина в таких условиях достаточно сложен (он уменьшает всасывание глюкозы в желудочно-кишечном тракте, а не только секрецию глюкагона и гормона роста), эти данные наряду с другими помогли оценить роль глюкагона как ведущего фактора в патогенезе сахарного диабета у человека, а в отсутствие диабета у человека или животных — как первой линии защиты от гипогликемии. Однако глюкагон — лишь один из многих гормонов, противодействующих инсулину. В гормональной регуляции метаболизма при избыточном питании или голоде принимают участие и глюкокортикоиды (гл. 11), и гипофизарный гормон роста (гл. 5), и катехоламины (гл. 13). Само существование целой группы надежных дублирующих механизмов подчеркивает тот факт, что ближайшие результаты гипогликемии гораздо опаснее для жизни, чем последствия гипергликемии. Не удивительно поэтому, что инсулин, который снижает уровень глюкозы в крови, выполняет партию соло, тогда как его антагонисты, защищающие организм от гипогликемии, выступают квартетом. *Длительное* повышение уровня глюкозы в крови — результат действия этого квартета, не уравновешенного противодействием инсулина, — может иметь опасные для жизни патофизиологические последствия, часть которых будет рассмотрена ниже.

Концепция «панкреатический островок как мини-орган»

Когда Орци и др. (Orci et al.) с помощью метода иммунофлуоресценции обнаружили в Δ-клетках панкреатических островков соматостатин, это привело к переоценке всей микроанатомии островков. Было установлено, что α-, β- и Δ-клетки в панкреатических островках человека и крысы расположены определенным образом. В поверхностном корковом слое α- и Δ-клетки лежат вперемешку и прилегают к наружному слою β-клеток. «Мозговой слой», или сердцевина островка, полностью состоит из β-клеток. В нормальных островках β-клетки состав-

ляют бóльшую часть — 60%, α-клетки — 25%, а Δ-клетки — 10% всей клеточной популяции. В некоторых условиях обычное соотношение типов клеток меняется. При гипертрофии островков, вызванной ожирением или постоянным введением глюкокортикоидов, доля β-клеток возрастает, а других — наоборот, снижается. В то же время при ювенильном диабете число β-клеток снижено, тогда как количество глюкагон- и соматостатин-секретирующих клеток увеличено. С другой стороны, при диабете взрослых уменьшается число соматостатин-секретирующих клеток.

Показано, что в корковом слое островковых клеток вблизи двенадцатиперстной кишки синтезируется и четвертый пептид. Это вещество получило название «панкреатический полипептид»; его мол. масса — примерно 4200. Функция панкреатического полипептида неизвестна, но при диабете отмечена гиперплазия синтезирующих его клеток.

Строение островка и на уровне световой микроскопии достаточно сложно, но исследования Орци по ультраструктуре островковых клеток, особенно с помощью метода замораживания—скалывания, выявили дополнительный уровень сложности. Взаимодействия между островковыми клетками чрезвычайно разнообразны: одни клетки образуют с соседними плотные контакты, тогда как другие соединяются щелевыми контактами. Щелевые контакты обладают низким сопротивлением и обеспечивают непрерывность цитоплазмы соседних клеток; через них вещества с мол. массой до 800 могут свободно перемещаться из клетки в клетку. Такие щели существуют не только между клетками одного типа (β-β), но и между клетками разных типов (α-Δ; α-β), и поэтому многие клетки могут одновременно получать общую информацию и реагировать на нее совместно (как синцитий или клеточная колония). Электрофизиологические исследования островковых клеток показывают, что волны деполяризации легко распространяются от одной клетки к другой. В недавних экспериментах Коэн и др. (Kohen et al.) вводили в отдельные островковые клетки монослойной культуры флуоресцентный краситель. При высокой концентрации глюкозы в среде краситель распространялся в большем числе соседних клеток, чем при низкой концентрации. Это указывает на усиление межклеточной коммуникации в присутствии секреторного стимула.

Значение плотных контактов неизвестно, но логично предположить, что они обеспечивают функциональное разделение внеклеточной жидкости на отдельные компартменты (например, контакты между клетками Сертоли в семенниках) и тем самым играют определенную физиологическую роль. Вероятно, расположение плотных контактов влияет на выведение продук-

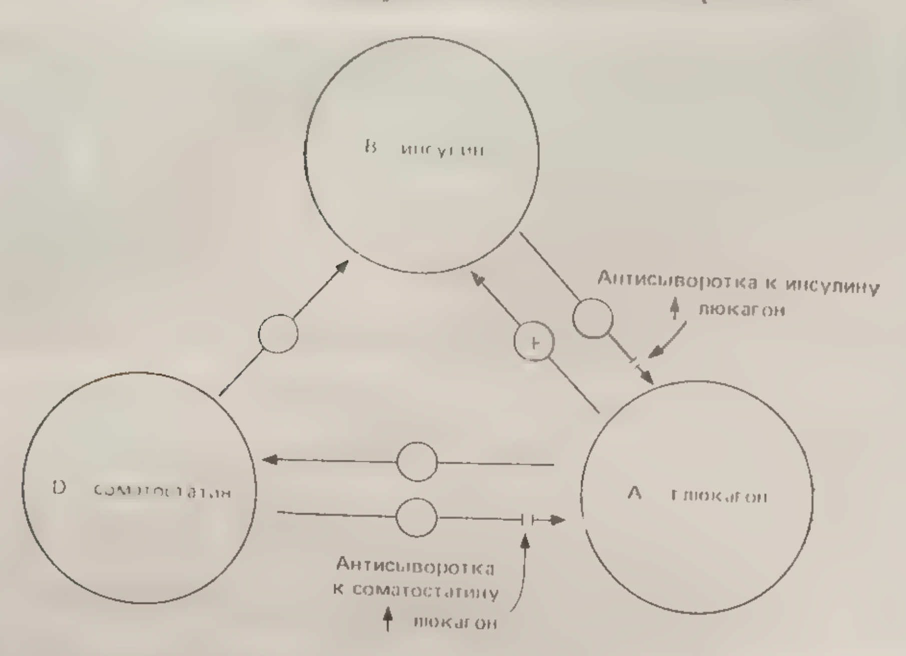


Рис. 14-6. Возможные паракринные эффекты продуктов островковых клеток. A, B, D — α-, β- и Δ-клетки соответственно

тов секреции в венозную кровь, дренирующую островок. Кроме того, возможно, что благодаря таким контактам секреторные сигналы и субстраты поступают преимущественно к определенной стороне клетки. В любом случае, вряд ли эти тонкие архитектурные детали служат простым украшением.

Прежде чем обсуждать сигналы, вызывающие секрецию островковых гормонов, следует отметить, что в островках гормоны клеток одного типа влияют на секреторную активность клеток другого типа.

К известным потенциально паракринным эффектам гормонов поджелудочной железы относятся следующие (рис. 14-6).

Инсулин ингибирует секреторную активность α-клеток;

глюкагон стимулирует секреторную активность β- и Δ-клеток;

соматостатин ингибирует секреторную активность α- и β-клеток.

На основании морфологических и функциональных взаимоотношений островковых клеток Орци, Унгер и их сотр. предположили, что островок Лангерганса представляет собой маленький орган, все клетки которого координированно отвечают на многие секреторные и ингибиторные стимулы. Согласно этой точке зрения, гормональная реакция островка — это комплекс ответных реакций всех островковых клеток не только на поступающие к ним гуморальные и нервные сигналы, но и на паракринные влияния, которые они оказывают друг на друга.

Физиологическое значение паракринного взаимодействия островковых клеток ставится под сомнение, хотя аргументы в пользу паракринной регуляции представляются достаточно убедительными.

В настоящее время невозможно дать более точное описание концепции «островок как мини-орган», но и в таком виде она обладает эстетической привлекательностью. Представьте себе фотографию помещения, битком набитого аппаратурой (анализатор глюкозы, компьютер, насосы, резервуары), которую Албиссер и др. (Albisser et al.) применили для создания функционирующей «искусственной поджелудочной железы», способной регулировать концентрацию глюкозы в крови больных инсулинозависимым диабетом. А теперь сравните это с островком Лангерганса, который не только работает лучше искусственной железы, но и служит микроминиатюрным средством, обеспечивающим большинству людей независимое существование в течение всей жизни.

Сигналы, которые стимулируют и тормозят секрецию островковых гормонов

Эндокринная клетка желудочно-кишечного тракта: «прибор раннего оповещения»

Хотя слово «гормон» впервые было использовано для обозначения вещества, вырабатывающегося в желудочно-кишечном тракте, гастроинтестинальные гормоны связывали в основном с пищеварительными процессами (секреция, перистальтика) и потому считали их предметом скорее гастроэнтерологии, чем эндокринологии. В последние годы, однако, во многом благодаря исследованию секреторной активности панкреатических клеток, сформировалось новое представление о функции гормонов желудочно-кишечного тракта. Этому способствовали главным образом данные о том, что пероральный прием глюкозы обусловливает бóльшую концентрацию инсулина и меньшую концентрацию глюкозы в сыворотке крови, чем внутривенное введение такого же количества глюкозы. Связь между гастроинтестинальными клетками и функцией островковых клеток отражена в термине «гастроэнтеро-панкреатическая система» (Fujita et al.). Унгер и Эйзентраут (Unger, Eisentraut) для описания того же понятия используют термин «энтеро-инсулярная ось». Интересующиеся этим аспектом эндокринологии могут обратиться к специальной монографии об ультраструктурных и биохимических основах концепции гастроэнтеро-панкреатической системы (Fujuta), а также к статье Унгера и Эйзентраута.

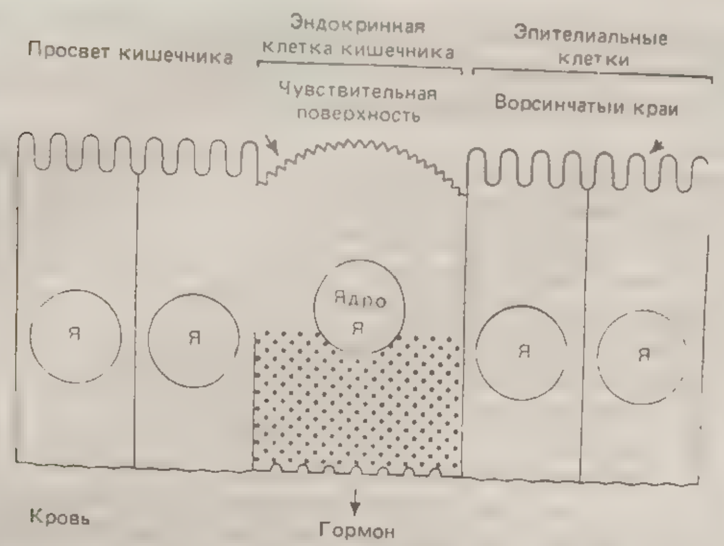


Рис. 14-7. Эндокринная клетка кишечника как «прибор раннего оповещения».

Желудочно-кишечный тракт — это, несомненно, самый крупный эндокринный орган. Среди всасывающих клеток цилиндрического эпителия и экзокринных секреторных клеток, выделяющих свое содержимое в просвет желудка или кишечника, расположены высокоспециализированные клетки, с одной стороны воспринимающие сигналы из просвета желудочно-кишечного тракта и секретирующие накопленные в гранулах гормоны в другую сторону — непосредственно в кровь (рис. 14-7). С помощью методов иммуноцитохимии и электронной микроскопии можно идентифицировать многие клетки этого типа. Секреция каждой из них стимулируется определенной совокупностью химических сигналов (например, глюкозой, аминокислотами, жирными кислотами, кислым или щелочным pH). Затем секретируемый гормон поступает в поджелудочную железу и сенсибилизирует соответствующие эндокринные клетки к действию обычных пищевых стимулов. Процесс сенсибилизации осуществляется до того, как всасываемое в желудочно-кишечном тракте пищевое вещество достигнет в высокой концентрации поджелудочной железы. Таким образом, эндокринные клетки желудка и кишечника способны «снимать пробу» с содержимого пищеварительного тракта и «предупреждать» соответствующие эндокринные клетки поджелудочной железы о необходимости предстоящей деятельности, поэтому последние оказываются заранее готовыми к выполнению своей роли в метаболизме поступающих пищевых веществ.

После того как было установлено, что глюкагон усиливает ответную реакцию β-клеток на действие глюкозы, выяснилось, что аналогичным эффектом обладают и другие гормоны желу-

дочно-кишечного тракта — гастрин, секретин, холецистокинин-панкреозимин. Позднее, после разработки радиоиммунологического метода определения желудочного ингибиторного пептида, было показано, что прием глюкозы увеличивает его концентрацию в крови. Кроме того, у тучных больных (при заболевании, проявляющемся в среднем возрасте) пероральный прием глюкозы сопровождается не только большей, чем в норме, гиперинсулинемией, но и большей секрецией желудочного ингибиторного пептида (Crockett et al.; Ebert et al.). Исследователи пришли к заключению, что инсулин тормозит секрецию желудочного ингибиторного пептида, а запаздывание секреции инсулина у больных диабетом создает возможность более сильной сенсибилизации β-клеток этим пептидом, т. е. обеспечивает повышенную реакцию последних на секреторный стимул. В настоящее время именно желудочный ингибиторный пептид считают основным гормоном желудочно-кишечного тракта, потенцирующим секрецию инсулина.

Влияние гормонов желудочно-кишечного тракта на секреторную активность α-клеток изучалось менее интенсивно, но все же некоторые эффекты были описаны. Панкреозимин, секреция которого активируется аминокислотами, резко усиливает выброс глюкагона при стимуляции α-клеток. Этот эффект участвует в стимуляции секреции глюкагона белковой пищей.

Связь между желудочно-кишечным трактом и эндокринной тканью поджелудочной железы не является односторонней: островки Лангерганса могут генерировать необходимые сигналы (помимо торможения секреции желудочного ингибиторного пептида), влияющие на активность кишечного эпителия. Например, соматостатин (секреция которого Δ-клетками стимулируется почти всеми известными активаторами секреции инсулина) *снижает* всасывание глюкозы в желудочно-кишечном тракте. В этом может заключаться механизм снижения скорости поступления всасываемых веществ в кровь. Соматостатин, местно секретируемый клетками слизистой желудочно-кишечного тракта, выполняет, вероятно, аналогичную функцию паракринным путем. (См. недавний обзор Creutzfeld, Ebert.)

Регуляция секреторной активности островковых клеток

Островковые клетки — это чувствительные элементы, реагирующие на присутствующие в среде пищевые вещества и гормоны повышением или торможением секреции запасенного гормона. Эндокринные панкреатические клетки выделяют свой секрет в кровь воротной вены, где концентрация соответствующих гормонов оказывается выше, чем в периферической венозной или артериальной крови.

Таблица 14-2. Факторы, стимулирующие (↑) и тормозящие (↓) секрецию инсулина и глюкагона

Фактор	Секреция	
	инсулин	глюкагон
Островковые гормоны		
Инсулин	?	↓
Глюкагон	↑	?
Соматостатин	↓	↓
Пищевые вещества		
Глюкоза	↑	↓
Аминокислоты	↑	↑
Жирные кислоты	?	↓
Гормоны желудочно-кишечного тракта		
Желудочный ингибиторный пептид	↑	↑
Гастрин	↑	↑
Секретин	↑	↑
Панкреозимин-холецистокинин	↑	↑
Нейромедиаторы		
Ацетилхолин	↑	↑
Катехоламины	↓	↑
Стрессы		
Физическая нагрузка	↓	↑
Травма и т. п.	↓	↑
Ионы		
Низкий уровень кальция	↓	↑
Высокий уровень кальция	↑	↓
Фармакологические средства		
Препараты сульфонилмочевины	↑	?
2-дезоксиглюкоза	↓	?
D-манногептулоза	↓	?
Диазоксид	↓	?

Радиоиммунологические методы позволили изучать поминутные изменения секреторной активности островковых клеток в ответ на разнообразные стимуляторы и ингибиторы. В табл. 14-2 мы попытались обобщить некоторые особенности системы сигнал-реакция применительно к β- и α-клеткам.

Прежде всего, как уже отмечалось, островковые гормоны, вырабатываемые одним типом клеток, влияют на секреторную активность соседних клеток. Это, по-видимому, имеет важное физиологическое значение; добавление к препаратам островковых клеток антител к глюкагону или соматостатину меняет секрецию гормонов таким образом, который позволяет предполагать тоническое влияние α- и Δ-клеток друг на друга. Более того, при некоторых видах экспериментального и клинического ожирения усиленный выброс инсулина в ответ на введение глюкозы регистрируется на фоне снижения числа Δ-клеток в островках.

На секреторную активность островковых клеток главным

образом влияют *пищевые вещества*, метаболизм которых в свою очередь контролируется гормонами этих же клеток. Так, основным сигналом для секреции инсулина служит глюкоза, и резервы инсулина, как правило, оценивают с помощью *глюкозотолерантного теста*. Он заключается в том, что в организм вводят пробное количество глюкозы (перорально или внутривенно) и затем в течение определенного промежутка времени, а именно через один и два часа после введения пробной дозы определяют концентрацию глюкозы в сыворотке крови.

Белковая пища или смесь аминокислот стимулируют секрецию как инсулина, так и глюкагона. Это вполне оправданно, поскольку секреция одного инсулина могла бы вызвать гипогликемию, а одновременный выброс глюкагона компенсирует эффект инсулина, стимулируя гликогенолиз и глюконеогенез. При приеме смешанной пищи глюкоза ингибирует секрецию глюкагона и предотвращает его выброс под действием аминокислот.

Биологическое действие *гормонов желудочно-кишечного тракта* мы обсуждали ранее. Главным образом они усиливают ответные реакции β-клеток на действие глюкозы.

Многочисленные данные свидетельствуют об участии нейромедиаторов в модуляции эндокринной функции поджелудочной железы. Перерезка блуждающего нерва снижает секрецию инсулина, тогда как ацетилхолин и родственные ему соединения повышают ее. Ацетилхолин стимулирует и секрецию глюкагона. Катехоламины — адреналин и норадреналин — тормозят секрецию инсулина (через α-рецепторы) и стимулируют выброс глюкагона. В какой-то мере гликогенолитический эффект экзогенно вводимого адреналина, вероятно, обусловлен его глюкагонстимулирующим действием.

Ингибиторный эффект симпатической стимуляции и катехоламинов крови на секрецию инсулина при стрессе обсуждался в гл. 11. Он составляет часть сложной стереотипной реакции на травму и играет существенную роль в ходе катаболической фазы стрессорной реакции, предшествующей фазе восстановления.

Многие фармакологические вещества стимулируют или подавляют секрецию инсулина. Гораздо меньше мы знаем об их действии на α-клетки. Препараты сульфонилмочевины стимулируют в основном первую фазу ответной секреции инсулина; подробнее они будут рассмотрены ниже. 2-Дезоксиглюкоза представляет собой конкурентный ингибитор эффекта глюкозы, предотвращающий ее действие на секрецию инсулина; однако само по себе это вещество не стимулирует секрецию данного гормона. D-манногептулоза, равно как и диазоксид, также препятствуют выбросу инсулина.

Глюкоза, аминокислоты, гормоны желудочно-кишечного тракта и цАМФ стимулируют секрецию панкреатического соматостатина. Адреналин и диазоксид ингибируют ее. Как правило, стимуляторы и ингибиторы секреции инсулина влияют и на выброс соматостатина. Биологическое значение соматостатина в этих условиях неизвестно.

Основной вывод из перечисленных выше данных заключается в том, что α-, β- и Δ-клетки находятся под постоянным влиянием сложного комплекса стимуляторов и ингибиторов, в норме действующих совместно, особенно в условиях, связанных с приемом пищи. Тот факт, что глюкоза может стимулировать высвобождение ингибитора секреции инсулина или что глюкагон стимулирует секрецию своего антагониста, вероятно, служит примером генерации одним и тем же стимулом как положительного, так и отрицательного сигнала.

Механизм действия инсулина

Хотя на изучение механизмов действия инсулина затрачены огромные усилия, пока невозможно предложить читателю нечто большее, чем простой отчет о состоянии дел. Если разделить весь процесс действия инсулина на три стадии: 1) гормон-рецепторное взаимодействие, 2) возникновение в результате такого взаимодействия многочисленных сигналов и 3) биологические эффекты этих сигналов, — то станет ясно, что определенный прогресс произошел в первой области и многое сделано в последней. Однако, каким образом взаимодействие инсулина с рецептором сопрягается с последствиями такого взаимодействия, все еще недостаточно понятно. Некоторые идеи в области экспериментальных подходов к разработке этой проблемы и усилия, затраченные на ее решения, описаны Чехом (Czech).

Метаболические процессы, происходящие в печени, жировой ткани и мышцах контролируются инсулином и его антагонистами: глюкагоном, катехоламинами, глюкокортикоидами и гормоном роста. Как правило, при повышении концентрации инсулина секреция его антагонистов подавляется, и, наоборот, при дефиците инсулина возникает тенденция к увеличению количества антагонистов. Избыток инсулина способствует анаболическим процессам, т. е. синтезу гликогена, жирных кислот и триацилглицеролов, а также синтезу белка; в то же время повышенное количество антагонистов облегчает катаболические процессы, т. е. гидролиз триацилглицеролов, окисление жирных кислот, кетогенез, протеолиз, гликогенолиз (табл. 14-3). Следует отметить, что инсулин не только стимулирует анаболические процессы, но и увеличивает отношение углеводы/жиры в смеси энергетических веществ, поступающих в ткани, особенно мышечную и жировую.

Таблица 14-3. Эффекты избытка и недостаточности инсулина и действие коррелятивных факторов[1)]

Избыток инсулина, или дефицит антагонистов, или низкая концентрация цАМФ		Дефицит инсулина, или избыток антагонистов, или высокая концентрация цАМФ
↑	Анаболические процессы	↓
	Синтез липидов	
	Синтез белка	
	Синтез гликогена	
↓	Катаболические процессы	↑
	Липолиз	
	Окисление жирных кислот	
	Кетогенез	
	Гликогенолиз	
	Протеолиз	
	Глюконеогенез	

1) По Fritz J. B. (1972). Insulin Action, New York, Academic Press.

Рецептор инсулина

После четвертого издания этой книги в 1980 г. достигнуты огромные успехи в изучении рецептора инсулина. В настоящее время известна его субъединичная структура, а также получены определенные сведения об аутофосфорилировании этого рецептора (см. обзор Czech). Мы узнали много нового об эндоцитозе гормон-рецепторного комплекса, кругообороте рецепторов и регуляции их числа на клеточной поверхности (Bergeron et al.) Кроме того, двум группам исследователей с помощью клонированной кДНК удалось полностью расшифровать аминокислотную последовательность (1370—1382 остатка) рецептора инсулина человека (Ullrich et al.; Ebina et al.).

Структура

Принятая гетеротетрамерная структура рецептора может быть изображена следующим образом:

$$\beta\,S\text{—}S\,\alpha\,S\text{—}S\,\alpha\,S\text{—}S\,\beta$$

(общая мол. масса 360 К)

Субъединица α имеет мол. массу 125 К, β — 90 К. Обе субъединицы представляют собой гликопротеины с углеводной частью на наружной стороне мембраны. Предшественник рецептора можно представить следующим образом: сигнальная последовательность («пре»-последовательность) — α-субъедини-

ца — участок протеолитического расщепления — β-субъединица. Процессинг прорецептора осуществляется в комплексе Гольджи, где «незащищенные» отдельные субъединицы гликозилируются. Субъединица α содержит основной инсулин-связывающий домен; β-субъединица представляет собой трансмембранный белок, состоящий из последовательности липофильных аминокислот (23 остатка), которая закрепляет весь рецепторный комплекс в мембране.

Фосфорилирование рецептора

β-Субъединица рецептора инсулина — это тирозинкиназа. При взаимодействии α-субъединицы с инсулином киназная активность β-субъединицы стимулируется и происходит ее аутофосфорилирование (Kasuga et al.). Активированная β-киназа может фосфорилировать не только сама себя, но и различные другие белки. В разрушенных клетках в составе β-субъединицы фосфорилируется только тирозин, но в интактных клетках (под действием инсулина), кроме β-субъединицы активируются и другие киназы; в результате этого фосфорилируются и остатки серина и треонина. [Следует отметить, что рецепторы некоторых ростовых факторов (эпидермального, из тромбоцитов, соматомедина С), а также отдельных продуктов онкогенов представляют собой тирозиновые протеинкиназы.]

Эти интересные исследования интенсивно развивались во многих лабораториях, но так и не было получено удовлетворительных ответов на следующие вопросы: 1) можно ли считать фосфорилирование тирозина β-субъединицы необходимым (возможно, инициирующим) этапом трансмембранной передачи сигнала, которая обусловливает всю или часть плейотропной реакции на инсулин, а если это так, то 2) каким образом это происходит?

Существует много данных о тесной корреляции биологических эффектов инсулина с фосфорилированием β-субъединицы рецептора. Однако имеются и другие, свидетельствующие о том, что ответная реакция на связывание инсулина с рецептором отличается от последствий фосфорилирования последнего. Например, антитела к рецептору инсулина имитируют эффекты инсулина без фосфорилирования β-субъединицы. Но если даже пренебречь этими данными и принять точку зрения, согласно которой фосфорилирование служит важным этапом инициации сложной клеточной реакции на инсулин, то все равно нельзя ответить на вопрос, каким образом это происходит.

Следует отметить, что фосфорилирование β-субъединицы не по тирозину, а по серину и треонину, катализируется цАМФ-зависимой протеинкиназой. Это служит хорошим примером

контррегуляции на молекулярном уровне, поскольку фосфорилирование β-субъединицы по серину и треонину снижает сродство α-субъединицы к инсулину. Иными словами, повышение концентрации цАМФ в клетке вызывает инсулинорезистентность. Нельзя забывать о том, что инсулин может снижать продукцию цАМФ, ускорять его разрушение фосфодиэстеразой и тем самым препятствовать активации цАМФ-зависимой протеинкиназы. β-Субъединица рецептора инсулина служит маленькой ареной, на которой происходит борьба двух гормональных «гладиаторов» — инсулина и глюкагона.

Регуляция рецепторов

Функциональная активность рецепторов подвергается быстрой или хронической (путем изменения их сродства к лиганду) или только хронической (путем *изменения плотности рецепторов* на мембране) регуляции.

Сродство рецепторов необязательно меняется параллельно чувствительности к инсулину, хотя это и может иметь место, например, при одновременном снижении сродства и чувствительности, описанном выше. Так, голодание приводит к парадоксальному *повышению* сродства и *снижению* чувствительности и реактивности к инсулину вследствие пострецепторных изменений. (Снижение чувствительности означает сдвиг кривой доза-реакция вправо, т. е. для одной и той же полумаксимальной реакции требуется больше инсулина, но при достаточном его количестве можно получить полную реакцию. Снижение же реактивности означает, что полную биологическую реакцию на инсулин нельзя получить ни при какой дозе инсулина.)

Поскольку сродство рецепторов к инсулину прогрессивно снижается по мере увеличения концентрации гормона, Де Мейтс и др. (De Meyts et al.) предположили, что при взаимодействии занятых рецепторов проявляется отрицательная кооперативность. Теперь же, когда известно, что фосфорилирование β-субъединицы снижает сродство α-субъединицы к инсулину, можно думать, что отрицательная кооперативность Де Мейтса может быть проявлением фосфорилирования β-субъединицы.

Интерес к хронической регуляции плотности или числа рецепторов возник после оригинальных исследований Рота (Roth), Кана (Cahn) и их сотрудников по изменению популяции рецепторов инсулина при экспериментальном и клиническом ожирении. Эти авторы показали, что 1) на адипоцитах и моноцитах, полученных от страдающих ожирением особей, присутствует меньше инсулин-связывающих участков, чем на клетках контрольных особей (без ожирения), и 2) это уменьшение числа рецепторов связано с гиперинсулинемией. (В последующих

опытах на культивируемых клетках, инкубируемых с инсулином, был обнаружен феномен снижающей регуляции рецепторов; по существу с этого началось изучение снижающей регуляции собственных рецепторов многими другими пептидными гормонами, аминами и нейромедиаторами.) При снижении массы тела у животных или человека количество рецепторов инсулина возрастает до контрольного уровня.

Впоследствии было установлено, что *занятые* рецепторы инсулина (как и практически всех других пептидных гормонов и аминов) проникают в клетку путем эндоцитоза. Хотя при этом клеткой захватывается гормон-рецепторный комплекс, судьба инсулина и его рецепторов в клетке различна. Первый быстро распадается (период полураспада инсулина составляет 30 мин); некоторые рецепторы распадаются за больший промежуток времени (период полураспада около 10 ч), тогда как другие сохраняются, подвергаются повторному процессингу и вновь встраиваются в мембрану. Несмотря на многочисленные попытки связать эндоцитоз инсулин-рецепторного комплекса с биологическим действием инсулина, показано, что проникновение этого гормона в клетку вовсе не обязательно для индукции многих его эффектов. В особенности это справедливо и для имитирующих действие инсулина антител к рецепторам (см. обзор Bergeron et al.)

Избыток рецепторов

Для многих, но не всех тканей характерен феномен избыточности рецепторов инсулина, который заключается в том, что максимальный биологический эффект регистрируется при взаимодействии гормона лишь с 2—5% находящихся на поверхности клетки связывающих инсулин участков. Избыток рецепторов позволяет клетке реагировать на инсулин даже при относительно низких его концентрациях. Гепатоциты обладают небольшим избытком рецепторов инсулина, т. е. биологический эффект гормона и занятость рецепторов здесь параллельны. Это, вероятно, обусловлено анатомическим расположением печени на пути венозного оттока от поджелудочной железы, т. е. тем, что печень подвергается действию гораздо более высоких концентраций инсулина, чем клетки периферических органов.

Клеточные механизмы действия инсулина

В истории изучения механизмов действия инсулина как в капле воды отражается история всей современной клеточной биологии. Для решения этой проблемы использовались разнообразные методические приемы. В результате получена обшир-

ная информация о механизме взаимодействия инсулина с рецептором (см. выше) и создан огромный банк данных о биохимических эффектах инсулина, но каким образом осуществляется связь между этими двумя процессами, до сих пор окончательно не установлено. Вероятно, эффекты инсулина опосредуются различным образом, поскольку они воспроизводятся при его действии в разных концентрациях и возникают в различное время после введения гормона. Кроме того, как и в отношении всех других гормонов, механизм действия инсулина определяется способностью чувствительной клетки к той или иной ответной реакции. Например, гормон по-разному влияет на клетки печени и жировой ткани, специализированные для выполнения различных функций. В конечном счете необходимо знать, какие эффекты опосредуются механизмом X, какие — Y и какие являются вторичными по отношению к предшествующим событиям. Пока, к сожалению, такие знания отсутствуют.

Для начала целесообразно объединить биологические эффекты инсулина в 4 группы: 1) *очень быстрые* (секунды): гиперполяризация мембран некоторых клеток, изменения мембранного транспорта глюкозы и ионов; 2) *быстрые* (минуты): активация или торможение многих ферментов, что приводит к преобладанию анаболических процессов, например гликогенеза, липогенеза и синтеза белка; одновременно ингибируются катаболические процессы; 3) *медленные* (от минут до часов): повышенное поглощение аминокислот клетками, избирательная индукция или репрессия синтеза ферментов (индуцируемые ферменты катализируют скорость-ограничивающие этапы анаболических реакций; репрессируемые — играют ключевую роль в противоположных катаболических реакциях); 4) *самые медленные* (от часов до суток): митогенез и размножение клеток.

Очень быстрые эффекты инсулина на функцию плазматической мембраны

Как уже отмечалось, взаимодействие инсулина с α-субъединицей рецептора немедленно вызывает аутофосфорилирование β-субъединицы. Эффект инсулина очень быстро сказывается и в виде других изменений в мембране. Некоторые из них заслуживают особого внимания. К ним относятся:

Гиперполяризация мембраны многих чувствительных к инсулину клеток (кроме гепатоцитов) (Zierler).

Выход H^+, поглощение Na^+; повышение pH клетки.

Задержка Ca^{2+} (ингибирование Ca^{2+}-насоса);

Поглощение K^+, выход Na^+ (Na^+, K^+-АТФаза).

Увеличение транспорта глюкозы.

Создается впечатление, что инсулин-рецепторное взаимодействие вызывает изменение физического состояния мембраны,

что само по себе можно рассматривать как сигнал, приводящий к одновременной активации многочисленных транспортных систем.

Особый интерес представляет активация транспорта глюкозы, поскольку в течение десятилетия или около того после открытия стимулирующего влияния инсулина на транспорт глюкозы (Levine) была широко распространена точка зрения, согласно которой все остальные эффекты инсулина являются вторичными по отношению к этому. Когда же удалось показать сохранение некоторых эффектов инсулина и в отсутствие глюкозы, изложенная точка зрения оказалась несостоятельной. Недавно интерес к эффекту инсулина на транспорт глюкозы возобновился, поскольку два исследователя (Kano, Cushman) с помощью разных методов и независимо друг от друга показали, что при действии инсулина на жировые клетки переносчики глюкозы из каких-то таинственных внутриклеточных недр перемещаются в плазматическую мембрану. В отсутствие инсулина большинство переносчиков покидает мембрану и возвращается в свое потайное хранилище. Такая перестройка мембраны под действием инсулина происходит почти мгновенно и практически целиком определяет возрастание транспорта глюкозы в ответ на инсулин. Быстрота реакции свидетельствует о том, что переносчики, ждущие сигнала для перемещения, могут располагаться под самой плазматической мембраной, возможно в контакте с ней.

Инсулин не только увеличивает число компонентов мембраны, но и приводит к *потере* некоторых из них. Так, Коно и др. описали перемещение чувствительной к инсулину фосфодиэстеразы из мембраны в клетку. В адипоцитах это могло бы служить одним из способов снижения уровня цАМФ под действием инсулина.

Очевидно, что быстрые мембранные эффекты инсулина играют роль в его действии, поскольку приводят к поступлению глюкозы в клетку и существенному изменению в ней ионной среды. Все прочие эффекты инсулина, осуществляемые через рецепторы, необходимо сопоставлять с этим его действием на плазматическую мембрану. Однако нельзя исключить и ту возможность, что некоторые мембранные эффекты (например, ускорение транспорта аминокислот) обусловливаются не гиперполяризацией мембраны, а какими-то химическими посредниками.

Регуляция ферментов

Открытие цАМФ и выяснение его главной роли в регуляции метаболизма путем обратимого фосфорилирования ключевых ферментов побудило исследователей к изучению возможных

эффектов инсулина на фосфорилирование и дефосфорилирование солюбилизированных белков, разделяемых методом двумерного электрофореза. Было установлено, что инсулин обусловливает высокоизбирательное фосфорилирование одних белков и дефосфорилирование других. Хотя скорости реакций, катализируемых специфическими ферментами, зависят от многих переменных (субстратов, коферментов, доступности АТФ/АДФ, ионной среды и т. п.), контроль путем фосфорилирования и дефосфорилирования ферментов занимает центральное положение в современной теории биохимической регуляции (Cohen).

В гл. 3 мы уже говорили о координированной регуляции двух противоположных по действию ферментов метаболизма гликогена. *Глюкагон* через цАМФ вызывает фосфорилирование (активацию) фосфорилазы и фосфорилирование (ингибирование) гликогенсинтазы, обеспечивая тем самым возможность беспрепятственного функционирования фосфорилазы. *Инсулин* оказывает прямо противоположное действие: он активирует фосфатазу, которая дефосфорилирует оба фермента и таким образом облегчает синтез гликогена и тормозит его распад. Этот вопрос — одновременное облегчение одного пути и ингибирование противоположного — часто обсуждается при рассмотрении последовательности реакций липогенеза в печени и адипоцитах. Например, действие инсулина приводит к преобладанию активности:

(Липогенез)		*(Глюконеогенез)*
1. Фосфофруктокиназы	над	фруктозо-1,6-бисфосфатазой
2. Пируваткиназы	над	фосфоенолпируваткарбоксикиназой
3. Триацилглицерол-синтазы	над	триацилглицерол-липазой

Основное внимание уделяется обычно пункту 1, и ниже будет предпринята попытка обобщить современные достижения в этой области. Однако интерес к новому не должен заслонять того факта, что инсулин *одновременно* влияет на многие биохимические процессы, облегчающие липогенез и тормозящие глюконеогенез, и тем самым создает *общий биохимический «климат»*, способствующий липогенезу. Так, помимо перечисленных выше регуляторных эффектов инсулин стимулирует и ферменты, участвующие в образовании НАДФ·Н — кофактора, необходимого для синтеза липидов, а именно: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу и НАДФ-малатдегидрогеназу. Действуя на глюкокиназу, инсулин регулирует проникновение глюкозы в гепатоциты и стимулирует важнейшие ферменты липогенеза: ацетил-КоА-карбоксилазу и синтазу жирных кислот.

Не удивительно, что интерес ко вторым посредникам гормонов, обусловленный открытием цАМФ (который также коорди-

нированно изменяет многие реакции в клетке) вдохновил Ларнера (Larner) на поиски второго посредника именно для инсулина. В 1979 г. этот автор и его сотрудники показали, что препарат (фракция II), полученный из мышцы крысы после действия инсулина, ингибирует цАМФ-зависимую протеинкиназную активность и стимулирует активность фосфатазы гликогенсинтазы-PO_4. Независимо было показано (Jarett et al.), что совместная инкубация плазматических мембран и митохондрий с инсулином приводит к активации пируватдегидрогеназы. Таким образом, впервые был продемонстрирован эффект инсулина в бесклеточной системе. В сотрудничестве с Ларнером группа Яретта обнаружила, что ранее экстрагированная Ларнером фракция II при добавлении к митохондриям тоже активирует пируватдегидрогеназу. Позднее было установлено, что этот предполагаемый второй посредник активирует фосфатазный компонент данного фермента, повышая активность фермента путем дефосфорилирования (см. обзор Gottschalk, Jarett).

Кроме уже упомянутых ферментов, факторы, выделяемые мембраной под действием инсулина, стимулируют инсулин-чувствительную цАМФ-фосфодиэстеразу, Ca^{2+}, Mg^{2+}-АТФазу и ацетил-КоА-карбоксилазу. Один из этих факторов ингибирует аденилатциклазу. Таким образом, активность перечисленных ферментов изменяется точно так же, как при действии инсулина на интактную клетку.

Несмотря на громадные усилия, второй посредник, определяющий действие инсулина, до сих пор не идентифицирован. Возможно, под действием инсулина образуется не один, а несколько посредников судя по тому, что при высоких концентрациях гормона обнаруживаются и ингибиторные вещества. Безуспешность попыток очистки и характеристики этих веществ несколько охладила энтузиазм, с которым были встречены работы 1979 г. Однако авторы данной книги остаются оптимистами и вот почему: в различных условиях инсулинорезистентности (потребление жира, введение глюкокортикоидов, диабет) продукция активатора пируватдегидрогеназы клеточными мембранами под действием инсулина снижается; напротив, в условиях повышенной чувствительности к инсулину (в частности, при физической нагрузке) под действием этого гормона клеточные мембраны выделяют больше, чем в норме, активатора пируватдегидрогеназы. Корреляция между продукцией активатора в ответ на инсулин и физиологическим состоянием клеток, из которых получают тестируемые мембраны, указывает на физиологическое значение предполагаемых посредников, хотя они химически и не охарактеризованы. Это не следует понимать так, что они формируют *единственный* механизм, посредством которого действует инсулин. Они, например, не влияют на транспорт или

окисление глюкозы в жировых клетках. В конце концов, вероятно, окажется, что инсулин действует через сеть взаимосвязанных механизмов, включающую и вторые посредники Ларнера — Яретта.

Инсулин оказывает быстрый эффект и на синтез белка (без ускорения синтеза мРНК). Известно, что он вызывает агрегацию рибосом в полисомы и стимулирует *инициацию* трансляции, равно как и элонгацию растущих полипептидных цепей. Хотя молекулярный механизм этого эффекта неизвестен, тем не менее можно предположить, что существует зависимость между фосфорилированием высоко специфического белка под действием инсулина и стимулирующим влиянием последнего на процесс трансляции. Показано (Rosen et al.), что одним из клеточных белков, фосфорилируемых по серину после введения инсулина, является рибосомный белок S6. Этот белок, будучи фосфорилированным, участвует в инициации трансляции. Более того, установлена тесная временна́я зависимость между ускорением инициации трансляции и фосфорилированием рибосомного белка S6 под действием инсулина (Hansson, Ingelman-Sundberg). Этот белок представляет собой еще одно молекулярное «поле битвы» между инсулином и глюкагоном, поскольку его фосфорилирование по другому сайту, осуществляемое цАМФ-*зависимой* киназой, приводит к *снижению* скорости инициации синтеза белка. Киназа или киназы, стимулируемые инсулином, относятся к цАМФ-*независимым*, представляя собой либо протеинкиназу C, либо активируемую протеазой протеинкиназу II. Таким образом, рибосомный белок S6 служит примером регуляторных соединений (существуют и другие), которые могут активироваться при фосфорилировании по одному сайту и ингибироваться при фосфорилировании по другому (Burkard, Traugh).

Индукция и репрессия синтеза ферментов под действием инсулина

До сих пор рассматривались те эффекты инсулина на активность ферментов, которые не сопровождаются изменением количества молекул последних. Подчеркивалось активирующее влияние инсулина на ферменты, лимитирующие скорость реакций, а тем самым и поток субстратов по путям синтеза углеводов, липидов и белка наряду с координированным угнетением активности противодействующих ферментов глюконеогенеза. Следует добавить, что инсулин препятствует действию и протеолитических систем, уравновешивающих активность ферментов белкового синтеза.

Если инсулин действует в течение часов и суток, то увеличивается не только *активность*, но и *число молекул* следующих ферментов (в печени): глюкокиназы, АТФ-цитратлиазы, ацетил-КоА-карбоксилазы, синтазы жирных кислот, пируваткиназы L-типа, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и НАДФ-малатдегидрогеназы. Можно видеть, что все перечисленные ферменты подвержены быстрой активации инсулином, и что все они участвуют в процессе липогенеза. Одновременно с индукцией синтеза этих ферментов происходит репрессия синтеза противоположно действующих ключевых ферментов глюконеогенеза. Феномен индукции и репрессии синтеза ферментов под действием инсулина подробно изучен на интактных животных, а также в культуре различных клеток.

Во всех изученных до сих пор случаях индукции установлено *повышение скорости транскрипции* (*синтеза мРНК*) после введения инсулина. В то же время показано, что инсулин снижает скорость образования мРНК фосфоенолпируваткарбоксикиназы — одного из наиболее широко изучавшихся ферментов глюконеогенеза. В этом случае цАМФ индуцирует образование новых молекул мРНК для синтеза этого фермента.

Механизмы избирательного действия инсулина на транскрипцию отдельных генов и ряда ферментов неизвестны. Тот факт, что фруктоза (сахар, метаболизм которого гепатоцитами не требует присутствия инсулина) способна индуцировать синтез тех же ферментов у животных с диабетом, свидетельствует о том, что действие инсулина на генетический аппарат опосредовано ускорением метаболизма глюкозы. Это предположение подтверждается тем, что и глицерол способен индуцировать синтез пируваткиназы в отсутствие инсулина. Каким образом метаболизм субстратов (в присутствии или в отсутствие инсулина) влияет на избирательную транскрипцию, до сих пор неизвестно. Если можно описать некоторые молекулярные детали индукции lac-оперона под действием цАМФ у *E. coli*, то в отношении индукции фосфоенолпируваткарбоксикиназы в гепатоцитах тем же цАМФ этого сделать нельзя (см. Czech, Sasaketal).

Митогенный эффект инсулина

Стимулирующее действие инсулина на рост и пролиферацию клеток подтверждено как in vivo, так и in vitro. In vivo гормон оказывает комплексный, во многом опосредованный эффект. Хотя метаболическое действие инсулина, несомненно, вносит вклад в общую стимуляцию роста клеток, но имеются убедительные доказательства, что он облегчает и зависимый от гормона роста синтез соматомедина в печени и, возможно,

других тканях. Более того, инсулин может действовать на рост клеток синергично с соматомедином. Однако основная роль здесь принадлежит соматомедину, поскольку при карликовости Ларона у африканских пигмеев и у карликовых пуделей отсутствует синтез соматомедина, а явного дефицита инсулина нет.

На многие культуры клеток инсулин действует как *митоген*. Показателем данного эффекта служит стимуляция включения ^{3}H-тимидина в ДНК. В некоторых клетках (фибробласты) для стимуляции синтеза ДНК требуются гораздо более высокие концентрации инсулина, чем для ускорения транспорта глюкозы или других быстрых метаболических проявлений эффектов гормона. Блокада рецепторов инсулина в этих клетках (фрагментами антирецепторных антител, которые сами по себе не способны имитировать биологические эффекты инсулина) не препятствует стимуляции синтеза ДНК в присутствии инсулина. Считают, что в этом случае митогенный эффект инсулина обусловлен его перекрестным взаимодействием с рецепторами соматомедина. В других клетках (печень, многие опухолевые клетки) митогенный эффект инсулина опосредован его связыванием со своими собственными высокоаффинными рецепторами.

Наиболее привлекательная (хотя все еще недостаточно доказанная) гипотеза, объясняющая митогенный эффект инсулина (равно как и других ростовых факторов, таких, как эпидермальный, из тромбоцитов, фактор роста фибробластов, соматомедин), заключается в том, что длительная стимуляция синтеза белка посредством фосфорилирования рибосомного белка S6 в конце концов приводит к синтезу неуловимого пептида, необходимого для перевода клеток, находящихся в фазе G_1 митотического цикла, в фазу S. Другие хорошо известные ростовые факторы напоминают инсулин тем, что: 1) происходят от общей «прамолекулы» (см. выше); 2) взаимодействуют с рецепторами, представляющими собой тирозиновые аутокиназы; 3) стимулируют фосфорилирование по серину рибосомного белка S6. (Связь между последними двумя процессами, если и существует, то пока неизвестна.) Инсулин и другие митогенные факторы действуют синергично (т. е. эффекты каждой пары стимуляторов превышают простую сумму эффектов каждого из них). Этот факт свидетельствует о том, что, хотя все они могут обладать общим механизмом действия, их эффекты осуществляются различным образом.

Исследования в данной области интенсивно развиваются в связи с тем, что форболовые эфиры, являющиеся аналогами диацилглицерола, стимулируют протеинкиназу C, которая в свою очередь фосфорилирует рибосомный белок S6 и усиливает эффекты канцерогенов. Белки — продукты онкогенов, подобно рецепторам инсулина и ростовых факторов, представляют собой

тирозинкиназы. Можно надеяться, что дальнейшее изучение этих процессов позволит установить закономерности как нормального, так и злокачественного роста (Straus).

Макрорегуляция распределения энергетических веществ в организме: взаимодействие между органами при голодании и приеме пищи

Поддержание постоянной концентрации глюкозы в крови обеспечивается совместным действием нервных и гормональных механизмов. *Повышение* концентрации глюкозы стимулирует секрецию инсулина и тормозит секрецию его физиологических антагонистов, особенно глюкагона и гормона роста (рис. 14-8).

Адаптация к голоданию: условия, способствующие повышению концентрации глюкозы в крови

Голодание приводит в действие сложный комплекс адаптивных реакций, направленных на сохранение компонентов тканей организма и перераспределение его химических ресурсов. Адаптация к меняющимся условиям питания протекает в двух временных шкалах: 1) быстро (кратковременно), когда время измеряется минутами, и 2) хронически (долговременно), когда время измеряется часами и сутками. Как правило, первоначальные сдвиги в основном обеспечиваются кратковременными эф-

ПОВЫШЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЛЮКОЗЫ	СНИЖЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЛЮКОЗЫ
Голод	Сытость
Всасывание глюкозы	
Введение глюкозы	(Диффузия глюкозы в жидкости организма)
Гликогенолиз в печени ГЛЮКАГОН (Г) АДРЕНАЛИН (А)	
	ИНСУЛИН
Глюконеогенез Г А КОРТИЗОЛ	↓ Выход глюкозы из печени ↑ Окисление глюкозы ↑ Отложение гликогена ↑ Липогенез
↓ Утилизация глюкозы ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ ГОРМОН РОСТА КОРТИЗОЛ	
Дегидратация)	(Глюкозурия)

Рис. 14-8. Перечень условий, способствующих повышению и снижению концентрации глюкозы в крови. (Голод увеличивает потребление пищи; сытость уменьшает потребление пищи.)

фектами гормонов и пищевых веществ без количественных изменений содержания внутриклеточных ферментов. Долговременные приспособительные реакции могут осуществляться путем сложных изменений количества клеточных ферментов. Все более очевидно, что эти изменения опосредованы совместным влиянием на клетки гормонов и конкретной смеси субстратов метаболизма.

Обычно в связи с голоданием и последующим приемом пищи обсуждают гормональную регуляцию уровня глюкозы в крови. Однако рассмотрение регуляторных механизмов одной только концентрации глюкозы — это чрезмерное упрощение ситуации, поскольку при голодании и последующем приеме пищи одновременно функционирует крайне сложная совокупность механизмов регуляции всех видов обмена веществ — углеводного, жирового и белкового, а также водного и электролитного. Наиболее характерной особенностью механизмов регуляции обмена веществ, изучаемых на уровне целостного организма или одной клетки, можно считать их координированную работу. Метаболизм всех трех основных компонентов пищи (углеводов, жиров и белков) регулируется одновременно одной и той же совокупностью сигналов.

Голод

Чувство голода — один из симптомов быстрого падения концентрации глюкозы в крови. С позиций целесообразности эта реакция вполне адекватна, поскольку голод, как правило, способствует поиску пищи и ее потреблению. Включение чувства голода в перечень условий, способствующих повышению концентрации глюкозы в крови — это попытка еще раз подчеркнуть следующее положение: метаболические процессы часто отражаются на поведении, и соответствующие формы поведения, меняющие взаимодействие животного с внешней средой, служат точно таким же проявлением «гомеостаза», как и адаптивные реакции в самом организме.

Пути поступления глюкозы в кровь

Существует всего три способа поступления глюкозы в кровь. *Первый* (нефизиологический путь) заключается во *введении* глюкозы либо внутривенным, либо каким-то иным парентеральным способом. Такой путь может приобретать особое значение в диагностике и лечении больных, а также при некоторых экспериментальных подходах. *Второй* (и привычный) путь — это *всасывание* глюкозы в желудочно-кишечном тракте. В обычных

условиях человек и животное обладают двумя основными источниками калорий: жировой тканью и содержимым желудочно-кишечного тракта. Легко убедиться, что нарушение всасывания глюкозы или других углеводов нарушает систему поддержания постоянной концентрации глюкозы в крови, чем характеризуются некоторые заболевания человека.

Третий путь поступления глюкозы в кровь открыт Клодом Бернаром и заключается во «внутренней секреции» глюкозы печенью. Несколько лет назад было установлено, что даже в отсутствие явных гормональных эффектов печень обладает определенной степенью автономии в отношении количества сахара, выделяемого в печеночные вены или задерживаемого в ткани. Однако этот автономный контроль моделируется множеством гормональных сигналов. При необходимости в ответ на соответствующие гормональные сигналы печень может поддерживать постоянную концентрацию глюкозы в крови даже в отсутствие всасывания глюкозы в желудочно-кишечном тракте.

Способность печени секретировать глюкозу в кровь обусловлена в основном двумя процессами. Первый из них — *гликогенолиз* — протекает в течение минут, тогда как второй — *глюконеогенез* — в течение часов и суток. Гликогенолиз — это просто распад накопившегося в печени гликогена до глюкозо-6-фосфата. Последний под действием специфической фосфатазы (содержащейся в печени, но не в мышцах) расщепляется с высвобождением в кровь свободной глюкозы.

Это высвобождение глюкозы из печени, по-видимому, служит адекватным средством адаптации к острым потребностям, но постоянная концентрация глюкозы в крови не могла бы сохраняться длительное время, даже если бы весь гликоген из печени поступил в кровь в виде глюкозы. Масса печени человека — около 1500 г; если на долю гликогена приходится даже 4% массы органа, то полный гликогенолиз мог бы обеспечить поступление в кровь не более 60 г глюкозы (или всего 240 калорий). В условиях длительного лишения глюкозы, как это имеет место при голодании, или в отсутствие реабсорбции глюкозы в почках, как при флоридзиновом диабете, для эффективного поддержания постоянной концентрации глюкозы в крови необходимо участие какого-то иного механизма. Этот другой, длительный, процесс, происходящий в печени, называется *глюконеогенезом* и, хотя его определяют по-разному, в данном контексте означает трансформацию дезаминированных остатков аминокислот, глицерола и лактата в глюкозу. Как правило, глюконеогенез сопровождается быстрым поступлением новообразованной глюкозы в кровь, поскольку те физиологические условия, которые характеризуются высокой скоростью глюконеогенеза, обуслов-

ливают и «гипертрофию» фермента глюкозо-6-фосфатазы в печени, как бы ставящей штамп «только на экспорт» на большем, чем в норме, количестве молекул глюкозо-6-фосфата. Печень обладает уникальной способностью извлекать из притекающей крови определенные аминокислоты, — в чем легко убедиться, если внутривенно ввести большое количество белкового гидролизата. Даже при высоких скоростях введения трудно поддерживать повышенную концентрацию аминокислот в крови. Источником аминокислот, используемых для длительного поддержания постоянной концентрации глюкозы в крови при голодании и других состояниях, служат белки других тканей организма, особенно мышц, на долю которых приходится около 50% общей массы тела. Важную роль в мобилизации белка периферических тканей с поступлением в печень аминокислот, большинство которых используется для глюконеогенеза, играют глюкокортикоиды. Часть аминокислот, несомненно, используется и для синтеза определенных белков в печени и других тканях.

Если бы в условиях углеводного голодания или хронической потери сахара через почечные канальцы скорость утилизации глюкозы тканями (кроме ЦНС) оставалась столь же высокой, как и в состоянии сытости, то проблема постоянного снабжения глюкозой мозга приобретала бы бóльшую остроту, чем это есть на самом деле. Поэтому при голодании периферические ткани адаптивно снижают потребление глюкозы. Отчасти это происходит за счет общего снижения интенсивности обмена. На примере мышц голодающих или получающих жировой рацион крыс можно наблюдать и истинную адаптацию тканей. Такие мышцы, инкубируемые in vitro с глюкозой и радиоактивно меченными жирными кислотами, окисляют меньше глюкозы и больше жирных кислот, чем мышцы контрольных сытых животных. Окисление углеводов в периферических тканях блокируется, и они начинают в большей степени использовать жирные кислоты. Это конечно, существенно облегчает задачу печени по поддержанию постоянной концентрации глюкозы в крови путем глюконеогенеза, поскольку бóльшая доля новообразуемой глюкозы может поступать в жизненно важные ткани, особенно нуждающиеся в ней.

Природа гормональных эффектов, определяющих *блокаду периферического окисления глюкозы* при голодании, точно не известна. В «торможении» утилизации глюкозы мышцами важное значение придается глюкокортикоидам и гипофизарному гормону роста.

Влияние быстрого снижения концентрации глюкозы в крови на содержание в плазме этих антагонистов инсулина приведено на рис. 14-9.

Глюкозо-аминокислотный цикл

В последние годы Кахилл и Фелиг с сотр. (Cahill, Felig et al.), базируясь на фундаментальном исследовании Бенедикта (1915) по обмену веществ при голодании у человека, получили новые важные сведения о механизмах адаптации человека к длительному голоданию. Подтвердив, что экскреция азота (показатель распада белка) очень высока на ранних стадиях голодания, но затем постепенно уменьшается, эти авторы рассчитали, что при длительном голодании распад белка оказывается недостаточным, чтобы обеспечить адекватное снабжение мозга глюкозой. Стало очевидным, что мозг, длительно считавшийся облигатно зависимым от глюкозы, получает необходимую ему энергию из других метаболических источников. Более поздние исследования показали, что мозг человека способен адаптиро-

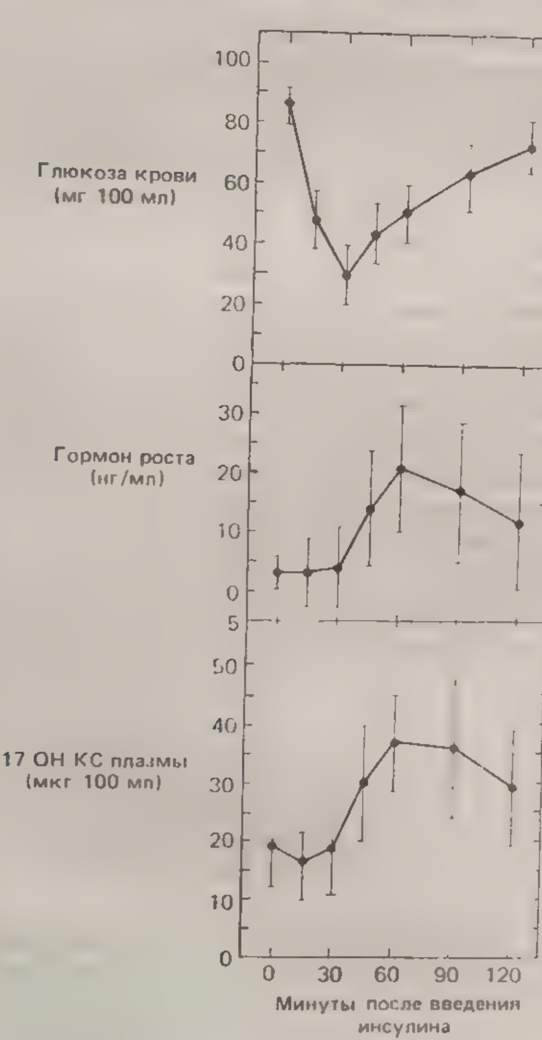


Рис. 14-9. Реакции 17-оксикортикостероидов и гормона роста (ГР) плазмы на инсулиновую гипогликемию у здоровых лиц. Инсулин в дозе 0,1 ед/кг массы тела вводили внутривенно в «нулевое» время. Реакция свидетельствует об интактности ГР- и АКТГ-секретирующих систем гипоталамо-гипофизарного комплекса. (Любезно предоставлено М. Миллером, неопубликованные данные.)

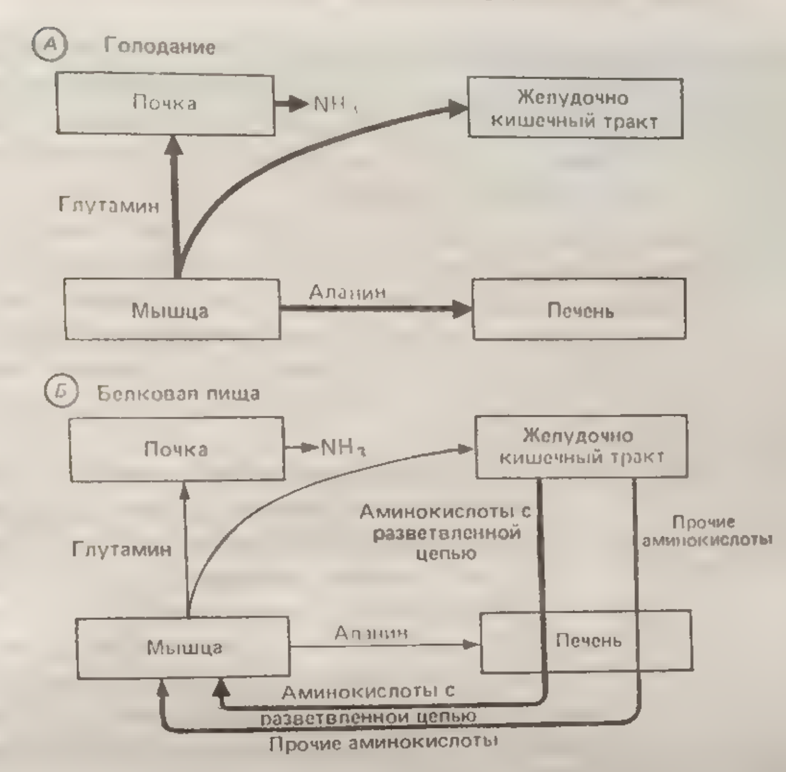


Рис. 14-10. *А* и *Б* — пути элиминации аминокислот при голодании и приеме пищи.

ваться к окислению кетоновых тел, и эта способность развивается одновременно со снижением общего катаболизма белка и уменьшением образования глюкозы из аминокислот в печени. Смит, Сэттертвейт и Соколов обнаружили адаптивное повышение активности β-гидроксибутират-дегидрогеназы в мозге голодающих крыс. Одновременная адаптация мозга и снижение распада белка при длительном голодании имеют очевидное значение для выживания, поскольку полностью адаптированный человек тратит в этих условиях не более 3—4 г своего собственного белка в сутки. Резкое уменьшение белковых затрат при голодании отчасти объясняется адаптивным снижением общей интенсивности обмена, обусловленным отсутствием пищи. Основной обмен у голодающего человека может падать на 50% от исходного уровня.

Во время голодания (рис. 14-10, *А*) отсутствует всасывание аминокислот в желудочно-кишечном тракте. Скелетные мышцы отдают в кровь смесь аминокислот, отличающуюся по составу от гидролизата мышечного белка тем, что в ней преобладают *аланин* и *глутамин*. Аланин поступает в печень, где служит предпочтительным субстратом глюконеогенеза. Глутамин захватывается почками и желудочно-кишечным трактом. В почках

из глутамина образуется NH_3, причем при голодании этот процесс идет с высокой скоростью. С позиций целесообразности это полезная реакция, ибо при голодании происходит экскреция кетокислот, а бо́льшая доступность NH_3 для экскреции приводит к меньшим потерям натрия с мочой.

Аланин образуется в мышцах из других аминокислот, отдающих свои аминогруппы пирувату. Пируват же образуется главным образом из мышечного гликогена, а не из глюкозы, потребление которой из крови в этих условиях снижено. Такая перестройка обмена характеризует основную цель глюконеогенеза — обеспечение глюкозой мозга и других облигатно зависимых от окисления глюкозы тканей.

На значение аланина как основного субстрата глюконеогенеза указывает тот факт, что эта аминокислота служит главным стимулятором секреции важнейшего активатора глюконеогенеза — глюкагона. Другой гормон, который давно уже связывают с процессом глюконеогенеза — кортизол — обеспечивает высокую чувствительность α-клеток к стимулирующему действию аланина. Этот совместный контроль важного биологического процесса доступностью субстрата и стимуляцией секреции соответствующих гормонов служит прекрасным примером взаимодействия регуляторных систем.

Не менее интересен и межорганный обмен аминокислотами, который происходит после приема белковой пищи. Фелиг и др. (Felig et al.) смогли определить степень экстракции отдельных аминокислот из их смеси, находящейся в крови воротной вены и по составу идентичной гидролизату белка пищи. Печень задерживает существенную долю аминокислот, поступающих с кровью воротной вены, но беспрепятственно пропускает в общий кровоток большую часть аминокислот с разветвленной цепью — валина, лейцина и изолейцина. В результате смесь, поступающая к скелетным мышцам, содержит преимущественно аминокислоты с разветвленной цепью. Даже в период всасывания белковой пищи в желудочно-кишечном тракте, когда стимулируется секреция инсулина и в мышечной клетке происходит синтез белка, мышцы все еще продолжают высвобождать аланин и глутамин. Аланин возвращается в печень, где способствует глюконеогенезу, предупреждающему гипогликемию (которая могла бы возникнуть из-за стимулирующего действия аминокислот на секрецию инсулина). Таким образом, при всасывании продуктов переваривания мяса обычно антагонистичные гормоны — инсулин и глюкагон — действуют вместе: первый способствует запасанию питательных веществ, а второй препятствует гипогликемии.

Многие исследователи получили несомненные доказательства резкого снижения концентрации инсулина в крови при голода-

нии, уменьшения его выброса в ответ на многие стимулы и развития относительной инсулинорезистентности жировой и мышечной тканей. Действительно, голодание напоминает легкий диабет. Кахилл считает ослабление влияния инсулина важнейшим фактором адаптации к голоданию, обусловливающим мобилизацию жирных кислот из жировой ткани, кетоз и снижение синтеза белка в мышцах. Полагают, что глюкокортикоидам принадлежит в основном пермиссивная роль в регуляции перемещения субстратов при голодании, поскольку с увеличением продолжительности последнего экскреция этих гормонов снижается.

Недавно показано, что некоторые реакции на голодание или дефицит инсулина (как при диабете) можно блокировать соматостатином, который тормозит секрецию глюкагона (Gerich, McGarry, Foster; Unger et al.). Шервин и Фелиг с сотрудниками поставили под сомнение значение избытка глюкагона (дополнительно к дефициту инсулина) главным образом на том основании, что соматостатин лишь кратковременно снижает концентрацию сахара. Более того, они предположили, что некоторое уменьшение гипергликемии при диабете под действием соматостатина в наблюдениях Гериха было связано с ингибирующим влиянием этого вещества на всасывание глюкозы в пищеварительном тракте.

Участники этого спора в действительности не столь уж расходятся во мнениях. Все согласны со значением дефицита инсулина и вряд ли можно сомневаться в том, что в отсутствие глюкагона 1) снижается кетогенез и 2) уменьшается интенсивность глюконеогенеза в печени. Глюкагон слабо противодействует эффектам инсулина на утилизацию глюкозы и липолиз в периферических тканях. По-видимому, неверно было бы считать, что глюкагон противодействует эффектам инсулина без своих гормональных «союзников». Действительно, кратковременность действия глюкагона может быть следствием мобилизации катехоламинов и других повышающих концентрацию сахара гормонов в результате понижения уровня сахара под действием соматостатина. Показано, что пятидневное введение соматостатина при инсулинодефицитном диабете отчетливо ослабляет его выраженность (Gerich et al.).

Цикл глюкоза — жирные кислоты

Давно известно, что голодание или потребление богатой жирами и бедной углеводами пищи приводит к нарушению глюкозотолерантности и относительной резистентности к инсулину у животных и человека. Более того, в диафрагмальной мышце

как диабетических, так и получавших жиры крыс наблюдалось ускоренное окисление жирных кислот и соответственно замедленное окисление глюкозы. Общепринято, что эти эффекты обусловлены в основном снижением секреции инсулина поджелудочной железой при голодании и потреблении жира. Рэндл с сотр. (Randle et al.), а также другие авторы подчеркивают тот факт, что жирные кислоты могут очень быстро изменять характер метаболизма углеводов в мышцах. Этот быстрый эффект жирных кислот можно наблюдать даже in vitro на изолированных тканях, в частности — на изолированном перфузируемом сердце и диафрагме. Простая перфузия таких тканей жирными кислотами или кетоновыми телами обусловливает острое падение чувствительности к инсулину, нарушение способности окислять глюкозу в молочную кислоту и снижение скорости окисления пирувата.

Роль жирных кислот и продуктов их метаболизма в сохранении углеводов еще раз показывает, насколько взаимосвязаны влияния дефицита какого-либо гормона на процессы, протекающие в клетках разных типов, значительно отдаленных друг от друга. Если из жировой ткани высвобождается слишком много свободных жирных кислот (СЖК), то они, как описано выше, ингибируют метаболизм углеводов в мышечных клетках. Действительно, при исследовании больных диабетом взрослого типа обнаружено, что, несмотря на нормальную или даже повышенную секрецию инсулина в ответ на введение глюкозы, у них нарушается толерантность к углеводам и инсулину. Рэндл и сотр. (Randle et al.) обобщили результаты исследований, указывающих на то, что уровень СЖК в сыворотке крови таких больных с инсулинорезистентностью неадекватно высок как натощак, так и в течение некоторого времени после введения глюкозы. Эти авторы полагают, что нарушение толерантности к углеводам и инсулину у данных больных отчасти определяется глюкозосберегающим эффектом повышенного уровня СЖК в крови. Сигнальная роль жирных кислот, которой придается основное значение в концепции Рэндла о цикле глюкоза — жирные кислоты, иллюстрирует тот факт, что регуляция метаболизма осуществляется одновременно на разных уровнях и что концентрации обычных метаболитов формируют часть информационной системы клеток и могут определять в них характер перемещения субстратов.

Инсулин (см. ниже) — это белок, инактивирующийся в ряде тканей, особенно в печени. Как уже отмечалось, эндоцитозу и разрушению молекулы инсулина предшествует ее связывание с рецептором гепатоцита. Не исключено, что колебания скоростей инактивации и распада инсулина могут влиять на толерантность к глюкозе.

Существует ряд условий и процессов, при которых изменение концентрации глюкозы в крови является лишь кажущимся; некоторые из них указаны на рис. 14-8 в скобках. Дегидратация увеличивает концентрацию глюкозы в крови только потому, что возрастает концентрация всех растворенных в крови веществ из-за простого уменьшения объема жидкости, в которой они растворены. Резкое повышение уровня глюкозы в крови, наблюдаемое у больных диабетом при выраженном ацидозе, в определенной степени также обусловлено сопутствующей гемоконцентрацией. Поэтому она и рассматривается в числе факторов, способствующих повышению уровня глюкозы в крови.

Адаптация к приему пищи: факторы, способствующие снижению концентрации глюкозы в крови

Реакция на еду может начинаться еще до реального приема пищи. Вид, запах или даже предвкушение еды запускают нервную фазу пищеварительного процесса. При этом стимулируется секреторная и двигательная активность желудочно-кишечного тракта и, как показал И. П. Павлов, такие реакции могут иметь условно-рефлекторное происхождение.

Ассимиляция пищевых веществ в той или иной степени определяется самим характером поступающей в желудок смеси; от ее состава зависит выделение специфических гормонов желудочно-кишечного тракта. Например, жир увеличивает время пребывания пищи в желудке, тогда как лишенные жира сладкие напитки очень быстро поступают в двенадцатиперстную кишку. Даже тип углеводов влияет на скорость всасывания их в пищеварительном тракте. Моносахариды, образующиеся из смеси крахмала с волокнистыми веществами, поступают в кровь медленнее, чем глюкоза или продукты гидролиза сахарозы.

Как уже отмечалось, гормоны желудочно-кишечного тракта, секреция которых вызывается компонентами кишечного содержимого, «приводят в готовность» эндокринную часть поджелудочной железы, регулирующую распределение питательных веществ между органами и тканями. В зависимости от состава смеси всасывающихся метаболитов инсулин, глюкагон и соматостатин секретируются в разных соотношениях. При потреблении одних только углеводов избирательно секретируется инсулин (и соматостатин), тогда как секрецию глюкагона ингибирует совместное действие глюкозы и инсулина. Белковая пища вызывает секрецию всех трех островковых гормонов.

Основные процессы, которые стимулируются гормонами поджелудочной железы в период потребления пищи, — это синтез и запасание. Под влиянием инсулина печень, мышцы и жировая ткань поглощают углеводы, либо окисляя их, либо запасая в

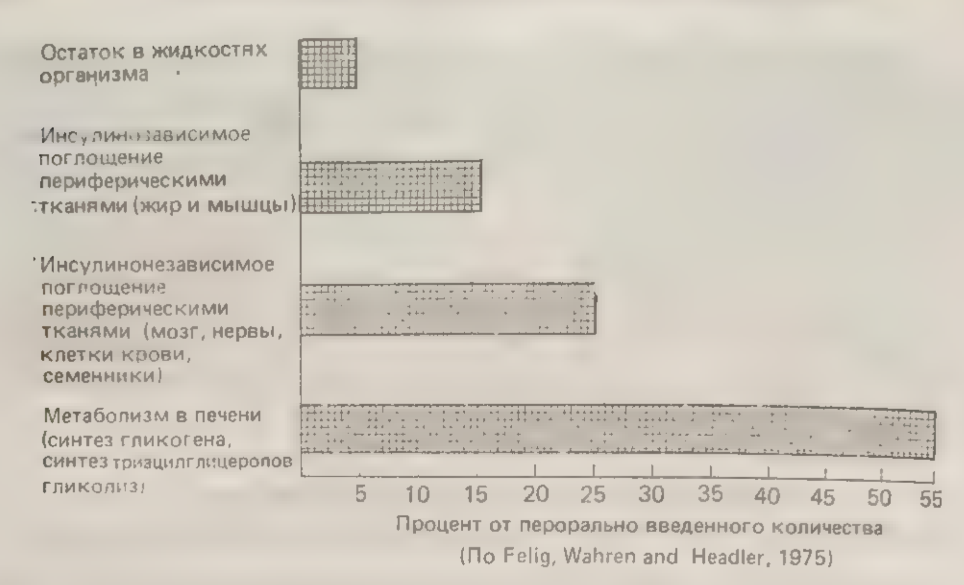


Рис. 14-11. Характер распределения глюкозы, введенной перорально.

форме гликогена или жира. Примерно 55% всосавшейся глюкозы захватывается печенью; только 15% поглощается инсулинозависимыми тканями (жировой и скелетными мышцами) и 25% извлекается инсулинонезависимыми тканями (мозгом, нервами, форменными элементами крови, мозговым слоем почек и зародышевым эпителием семенников) (рис. 14.11).

При приеме пищи после голодания печень запасает углеводы в виде гликогена или жира; секреция глюкозы печенью тормозится. У некоторых видов, включая человека, печень — это основной орган липогенеза: синтезируемые в гепатоцитах триацилглицеролы экспортируются в составе липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) в адипоциты и запасаются там. Способность адипоцитов запасать липиды ЛПОНП определяется стимулирующим действием инсулина на липопротеинлипазу (иногда называемую просветляющим фактором). В то же время инсулин способствует задержке триацилглицеролов в адипоцитах, поскольку ингибирует липолиз. Хотя инсулин снижает уровень цАМФ в адипоцитах, торможение липолиза можно наблюдать и в отсутствие изменений концентрации цАМФ. Точный механизм антилиполитического эффекта инсулина в адипоцитах неизвестен.

Наиболее яркие изменения в скелетных мышцах при потреблении пищи после голодания — это отложение гликогена и смещение белкового обмена от распада белка к его синтезу. Это обусловливается не только стимуляцией синтеза белка, но и координированным торможением процессов его катаболизма.

На рис. 14-12 показан пример совместных реакций β- и α-клеток поджелудочной железы на прием углеводов. На рис.

14-13 мы попытались представить совместную роль нервной системы, гормонов желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы и поступающих субстратов в общей активности островковых клеток. К указанным на рисунке положительным и отрицательным влияниям можно теперь добавить ингибиторные эффекты соматостатина на секреторную активность как α-, так и β-клеток.

Микрогомеостаз: примеры внутриклеточных регуляторных механизмов

Ознакомившись с координированной регуляцией перемещения субстратов в целостном организме, целесообразно рассмотреть некоторые механизмы контроля потока субстратов в гепатоците. Однако, прежде чем подробно обсуждать отдельные биохимические пути, необходимо сделать несколько обобщений, касающихся механизмов внутриклеточной регуляции.

1. Механизмы регуляции глюконеогенеза, кетогенеза и липогенеза невозможно описывать порознь, поскольку все эти процессы одновременно контролируются одним и тем же комплек-

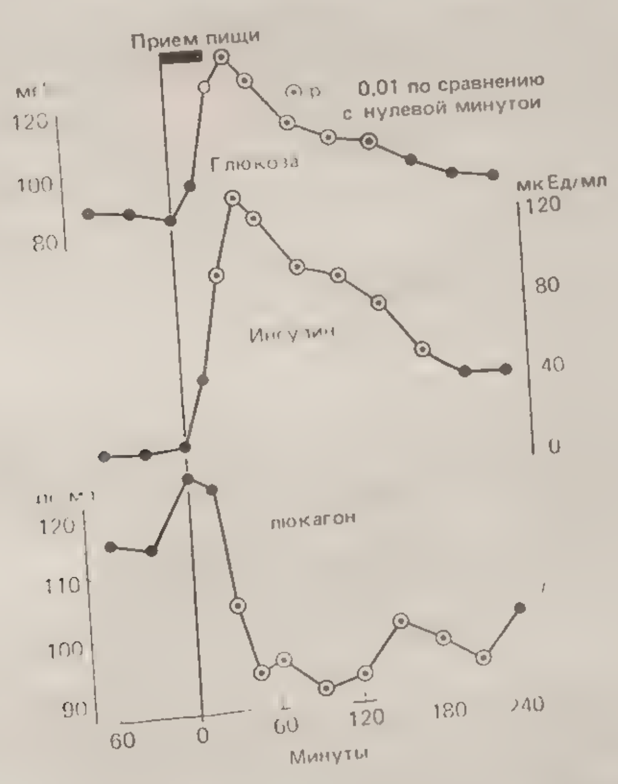


Рис. 14-12. Подавление секреции глюкагона при приеме углеводов у 11 здоровых лиц. (По Unger R. (1970). N. Engl. J. Med., 283, 109.)

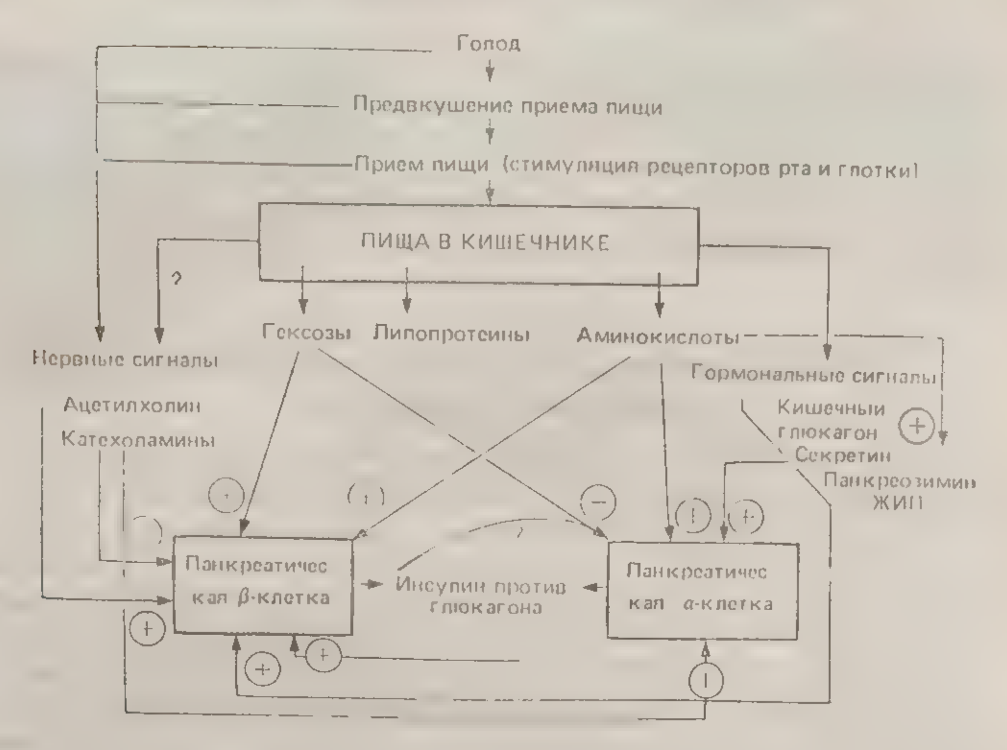


Рис. 14-13. Координированная регуляция секреции инсулина и глюкагона нервными, гормональными и субстратными сигналами. *ЖИП* — желудочный ингибиторный пептид.

сом сигналов. «Климат», создаваемый внутриклеточными субстратами и гормонами, который способствует глюконеогенезу и кетогенезу, активно препятствует липогенезу, и наоборот.

2. Регуляция определенных метаболических реакций осуществляется в двух временны́х шкалах: а) *быстро* (кратковременно), когда количество молекул фермента не меняется, и б) *хронически* (долговременно), когда могут иметь место резкие изменения равновесных концентраций некоторых ферментов, лимитирующих скорость реакции.

3. *Кратковременная регуляция* может осуществляться любым из перечисленных ниже способов (или всеми одновременно):

а) путем изменения *количества доступного субстрата* или удаления субстрата;

б) путем изменения *доступности* необходимых *коферментов* (например, НАД, НАД·Н, НАДФ, НАДФ·Н);

в) путем *изменения уровня энергии* (например, АТФ, АДФ, ГТФ, ГДФ);

г) путем *изменения ионной среды*, влияющей на кинетику реакции или активность скорость-лимитирующего фермента;

д) путем *ковалентной* модификации фермента (например, фосфорилирование белка цАМФ-зависимой, Ca^{2+}-кальмодулинзависимой протеинкиназой или протеинкиназой С и др.);

е) путем *аллостерической* активации или ингибирования нековалентно связанными метаболитами, например фосфорилированными интермедиатами метаболизма глюкозы, АТФ, цитратом, жирными кислотами и ацил-КоА.

4. *Хронические* регуляторные механизмы включают изменение равновесных концентраций ключевых ферментов. Эти адаптивные изменения часто затрагивают именно те этапы переключения обмена, которые служат объектами наиболее выраженных кратковременных регуляторных влияний. Хроническая регуляция осуществляется путем изменения скоростей синтеза и распада ферментного белка. Изучение нескольких ферментов путем их очистки, получения специфических антител, определения скорости синтеза (на основе иммунопреципитации ферментного белка) и сравнения ее со скоростью синтеза общего белка позволило заключить, что в некоторых случаях (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, НАДФ-малатдегидрогеназа, ацетил-КоА-карбоксилаза, синтетаза жирных кислот, ферменты глюконеогенеза, индуцируемые глюкокортикоидами) индукция синтеза ферментов включает транскрипцию генов. Примеры индукции ферментов рассматривались в главах 2, 10 и 11.

5. Регуляция скорость-лимитирующих ферментов чаще всего наблюдается там, где прямую и обратную реакцию катализируют два *разных* фермента (или две *разные* ферментные системы).

Кетогенез

Уменьшение доступности инсулина и избыток его антагонистов, особенно глюкагона и катехоламинов, приводит к 1) липолизу и мобилизации СЖК и 2) прямому воздействию на клетки печени, способствующему продукции кетоновых тел.

Транспортирующая карнитин-ацилтрансферазная ферментная система переносит жирные кислоты через митохондриальную мембрану в митохондрии, где вновь образуется ацил-КоА, а карнитин диффундирует обратно для участия в транспорте следующих жирных кислот (рис. 14-4). Наиболее важная особенность этой системы заключается в том, что она регулируется в основном доступностью карнитина, а не путем изменения апопротеина трансферазы. Так, при высоких скоростях кетогенеза печень содержит большое количество карнитина; напротив, если в печени активно протекает липогенез (преобладает действие инсулина), то содержание карнитина уменьшается (см. McGarry, Foster).

Кетогенез осуществляется при низком отношении инсулин : глюкагон, как это имеет место при голодании и диабетическом кетоацидозе. В таких условиях возрастает содержание цАМФ и субстраты цАМФ-зависимой протеинкиназы фосфорилируются.

Преобладают катаболические процессы (гликогенолиз, липолиз), а анаболические процессы (общий синтез белка, липогенез) ингибируются. Одновременно стимулируется глюконеогенез.

Карнитин представляет собой триметилированный продукт аминокислоты лизина; метильные группы он получает от S-аденозилметионина (см. Hules et al.). Из-за интенсивного распада белка, происходящего при голодании, доступность лизина в период повышенной потребности в карнитине становится неограниченной. Имеет ли место при кетогенезе адаптивное количественное возрастание компонентов крайне сложной ферментной системы синтеза карнитина — остается неизвестным.

Другим примером исключительно точной координации процессов в гепатоците служит тот факт, что малонил-КоА (важнейший интермедиат синтеза жирных кислот) представляет собой аллостерический ингибитор карнитин-ацилтрансферазы (см. Garry et al., а также рис. 14-14). При ингибировании липогенеза (что, как известно, происходит в условиях голодания и недостаточности инсулина) концентрация малонил-КоА падает: карнитин-ацилтрансфераза освобождается от тормозного влияния, и облегчается транспорт жирных кислот в митохондрии. Циклический АМФ, содержание которого в клетках печени при кетозе велико, стимулирует липолиз триацилглицеролов, активируя липазу (рис. 14-14 (1)), и одновременно ингибирует обра-

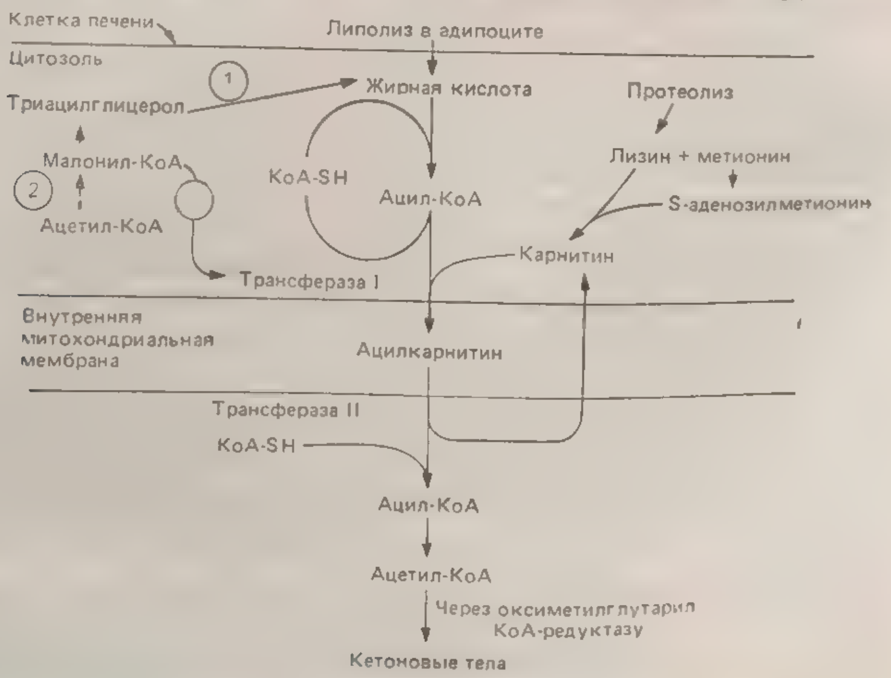


Рис. 14-14. Кетогенез. (В основном по McGarry J. and Foster D. W.)

зование малонил-КоА, снижая активность скорость-лимитирующего фермента синтеза жирных кислот — ацетил-КоА-карбоксилазы (рис. 14-4 (2)). Кроме того, синтез жирных кислот ингибируется их высокой концентрацией. Образование ацетил-КоА, предшественника кетоновых тел (ацетоацетата и β-гидроксибутирата), обеспечивается как поступлением СЖК в печень (вследствие их мобилизации из периферических тканей), так и преобладанием липолиза над липогенезом в самой клетке печени. Поскольку окисление жирных кислот сопровождается появлением восстановительных эквивалентов (НАД·Н>НАД), а превращение ацетоацетата в β-гидроксибутират требует НАД·Н, то в смеси кетоновых тел, «экспортируемой» из печени, преобладает именно β-гидроксибутират.

Глюконеогенез

На рис. 14-15, *А* предпринята попытка изобразить состояние гепатоцита, в котором происходит кетогенез (см. предыдущий раздел) и глюконеогенез. Начальная точка (вход) — ускоренное поступление в печень субстратов глюконеогенеза из периферических тканей (преимущественно скелетных мышц), в основном аланина (см. глюкозо-аминокислотный цикл). Это происходит при малой доступности инсулина и преобладании его антагонистов. Концентрация цАМФ в гепатоцитах в таких условиях возрастает.

Аланин трансаминируется (с помощью трансаминазы) в пируват, который поступает в митохондрии. Здесь он попадает в среду, которая определяется главным образом поступлением в печень больших количеств СЖК (опять-таки за счет преобладающего действия антагонистов инсулина на жировые клетки). Усиленное окисление СЖК помимо кетогенеза (см. предыдущий раздел) имеет два следствия: 1) резко возрастает концентрация ацетил-КоА в митохондриях и 2) из НАД образуется НАД·Н. Ацетил-КоА ингибирует пируватдегидрогеназу (*ПДГ*) и одновременно аллостерически активирует пируваткарбоксилазу (*ПКа*). ПДГ служит объектом сложной регуляции; один из регулирующих факторов — цАМФ-*не*зависимая протеинкиназа, которая фосфорилирует фермент (переводя его в неактивную форму), когда на гепатоцит действует глюкагон. Активна же дефосфорилированная ПДГ, преобладающая в клетках, на которые действует инсулин. В условиях глюконеогенеза пируват вступает на путь превращения в оксалоацетат (*ОксА*), но из-за резкого сдвига отношения НАД:НАД·Н в сторону НАД·Н (генерируемого β-окислением ацил-КоА) из оксалоацетата образуется малат. Этот «поворот» оказывается весьма выгодным, поскольку митохондриальная мембрана способна транспортировать в цитоплазму малат, но не оксалоацетат.

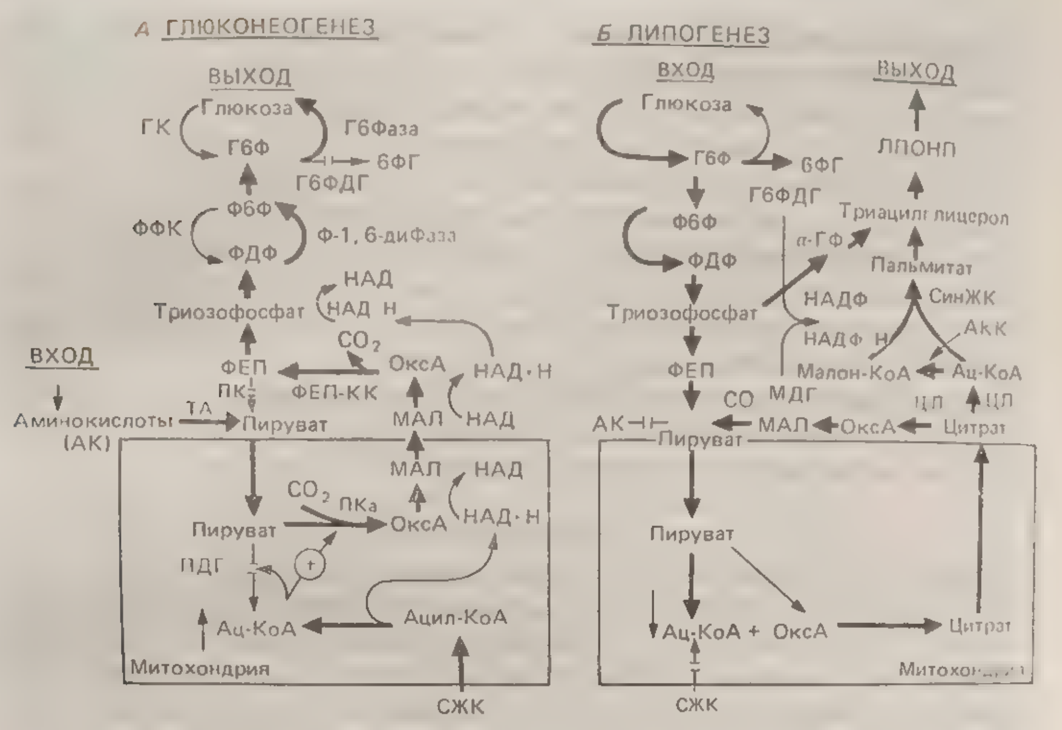


Рис. 14-15. *А* — глюконеогенез. *Б.* — липогенез. *Субстраты*: *Г6Ф* — глюкозо-6-фосфат, *6ФГ* — 6-фосфоглюконолактон, *Ф6Ф* — фруктозо-6-фосфат, *ФДФ* — фруктозодифосфат; *ФЕП* — фосфоенолпируват, *АцКоА* — ацетил-КоА, *ОксА* — оксалацетат, *МАЛ* — малат, *МалонКоА* — малонил-КоА, *ЛПОНП* — липопротеины очень низкой плотности, *α-ГФ* — α-глицерофосфат, *АК* — аминокислоты. *Ферменты*: *ГК* — глюкокиназа, *ФФК* — фосфофруктокиназа, *ПК* — пируваткиназа, *ТА* — трансаминаза, *ПДГ* — пируватдегидрогеназа, *ПКа* — пируваткарбоксилаза, *ФЕП-КК* — ФЕП-карбоксикиназа, *Ф-1,6-диФаза* — фруктозо-1,6-дифосфатаза, *Г6ФДГ* — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, *Г6Фаза* — глюкозо-6-фосфатаза, *МДГ* — малатдегидрогеназа, *ЦЛ* — цитратлиаза, *АКК* — ацетил-КоА-карбоксилаза, *СинЖК* — синтаза жирных кислот.

Малат поступает в цитозоль, где НАД преобладает над НАД·Н, поскольку в данных условиях в результате гликолиза (путь Эмбдена — Мейергофа) образуется лишь небольшое количество НАД·Н. Поэтому малат вновь превращается в оксалоацетат, и восстановительные эквиваленты (образующиеся при окислении жирных кислот) перемещаются в цитозоль, где они включаются в процесс глюконеогенеза.

Оксалоацетат декарбоксилируется в фосфоенолпируват под действием ключевого фермента глюконеогенеза — фосфоенолпируваткарбоксикиназы. Недавно показано, что цАМФ-зависимая протеинкиназа фосфорилирует и тем самым инактивирует пируваткиназу (Pilkis et al.). Таким образом, при стимуляции глюконеогенеза этот фермент неактивен. В результате фосфоенолпируват превращается в триозофосфаты. Это очень тонкий приспособительный механизм, поскольку если бы пируваткина-

за действовала только в одном направлении, то при образовании фосфоенолпирувата из аланина мог бы сформироваться холостой цикл. (Регуляция на этапе фосфофруктокиназы обсуждается в следующем разделе.)

На последнем этапе регулируется глюкозо-6-фосфатаза, которая отщепляет фосфат от глюкозофосфата, и образовавшаяся глюкоза секретируется в кровоток. Функционирование глюкозо-6-фосфатазы в этих условиях облегчается, поскольку высокая концентрация жирных кислот и ацил-КоА в гепатоците ингибирует ряд ферментов, в том числе глюкокиназу и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу, равно как и основные ферменты синтеза жирных кислот — ацетил-КоА-карбоксилазу и синтетазу жирных кислот.

Красота описанной системы очевидна. Регуляция осуществляется на уровне важнейших участков переключения путей метаболизма. Окисление жирных кислот не только поставляет в форме кетоновых тел субстраты для использования периферическими тканями, но и обеспечивает процесс глюконеогенеза восстановительными эквивалентами. Этот процесс иллюстрирует и корреляцию между реакциями, протекающими в митохондриях и цитозоле.

Регуляция экспрессии генов глюкокортикоидами обсуждалась в гл. 11.

Липогенез

Во время приема пищи после голодания, когда организм сталкивается с необходимостью запасания поступающих пищевых веществ (поскольку их всасывается гораздо больше, чем требуется для текущего использования), секретируется инсулин, а секреция его антагонистов, особенно глюкагона и гормона роста, подавляется. При этом концентрация инсулина в крови воротной вены печени намного превышает таковую в периферической артериальной крови. Концентрация глюкозы в крови воротной вены тоже очень высока. Поэтому гепатоциты оказываются в условиях резкого изменения как гормональной среды, так и смеси метаболитов (глюкозы, аминокислот и жирных кислот). Инсулин способствует синтезу белка и ингибирует его распад в скелетных и сердечной мышцах и других тканях, тем самым снижая поступление аминокислот из этих источников в печень. Антилиполитический эффект инсулина в жировых клетках точно так же тормозит высвобождение СЖК и поэтому уменьшает их концентрацию в протекающей через печень крови.

Действуя непосредственно на гепатоциты (которые имеют рецепторы инсулина), инсулин способствует отложению в них гликогена (см. гл. 3) и ингибирует секрецию глюкозы. Печень

реагирует на гораздо меньшие концентрации инсулина по сравнению с теми, которые необходимы для инициации биологических реакций в скелетных мышцах или жировой ткани (см. Rabinowitz, Lilienquist).

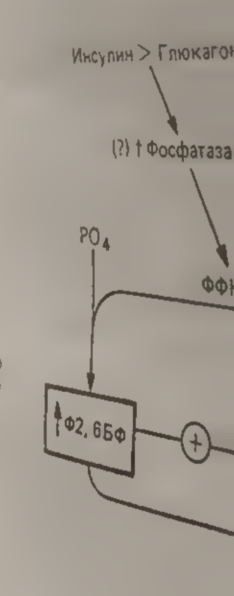
На рис. 14-15, *Б* приведена упрощенная схема ответной реакции гепатоцита на действие глюкозы и инсулина, а также на уменьшение влияний контррегуляторных гормонов. Объекты регуляции здесь те же самые, что описаны в разделе, посвященном глюкогенезу, но поток субстратов движется в противоположном направлении.

Плазматическая мембрана гепатоцитов, в отличие от мышечных и жировых клеток, свободно проницаема для глюкозы Однако вступит или не вступит глюкоза на путь гликолиза, зависит от результата «борьбы» между *глюкокиназой* и глюкозо-6-фосфатазой. Инсулин регулирует равновесную концентрацию *глюкокиназы*: при диабете она падает, а под действием инсулина — возрастает. Механизм данного эффекта не полностью ясен: по крайней мере отчасти он может быть следствием снижения концентрации жирных кислот в гепатоцитах под действием инсулина. Падение концентрации жирных кислот и ацил-КоА одновременно снимает торможение с пентозофосфатного пути и сюда отвлекается часть глюкозо-6-фосфата — субстрата глюкозо-6-фосфатазы. В результате явным «победителем» оказывается глюкокиназа.

Фруктозо-2,6-бисфосфат: третий посредник

Информация, поступающая в клетку после взаимодействия *первого* посредника (гормона) со своим рецептором, передается далее с помощью различных *вторых* посредников (цАМФ, ионы Ca^{2+}, комплекс Ca^{2+}-кальмодулин, инозитолтрифосфат, диацилглицерол, вторые посредники инсулина и т. д.). В настоящее время, после работ Херса с сотр. (Hers et al.), а также С. Д. Пилкиса с сотр. (Pilkis et al., см. Maghrabi et al.), можно описать механизм регуляции, функционирующий на этапе противоборства фосфофруктокиназы и фруктозо-1,6-бисфосфатазы (Ф-1,6-бисфаза). На рис. 14-16 мы попытались отразить тонкую симметрию регуляторных эффектов *третьего* посредника — фруктозо-2,6-бисфосфата.

Ключом к пониманию этого механизма послужило открытие того факта, что концентрация фруктозо-2,6-бисфосфата в клетках печени *увеличивается* в состоянии сытости, т. е. при наличии глюкозы и высоком молярном отношении инсулин : глюкагон, и *снижается*, когда соотношение гормонов становится обратным, например при голодании и диабете. Фосфофруктокиназа II, катализирующая образование фруктозо-2,6-бисфосфата, от-



личается редкой бифункциональностью, а именно: в фосфорилированной форме она представляет собой фосфатазу и *снижает* концентрацию фруктозо-2,6-бисфосфата, но в дефосфорилированной действует как киназа, *увеличивая* образование фруктозо-2,6-бисфосфата.

Фосфорилирование фосфофруктокиназы II контролируется цАМФ-зависимой протеинкиназой и инсулинозависимой фосфатазой (в последнем нет окончательной уверенности, но известно, что инсулин активирует ряд фосфатаз, и можно предположить, что и эту тоже).

Выступая в роли третьего посредника, фруктозо-2,6-бисфосфат в каталитических концентрациях резко стимулирует фосфофруктокиназу I и координированно ингибирует противоположно действующий фермент — фруктозо-1,6-бисфосфатазу. В результате поток субстратов направляется «вниз», к уровню триоз. *Снижение* концентрации фруктозо-2,6-бисфосфата приводит к обратному результату: поток субстратов направляется не «вниз», а «вверх». Таким образом, высокий уровень фруктозо-2,6-бисфосфата способствует образованию жиров из глюкозы, а низкий — обеспечивает возможность глюконеогенеза из триоз.

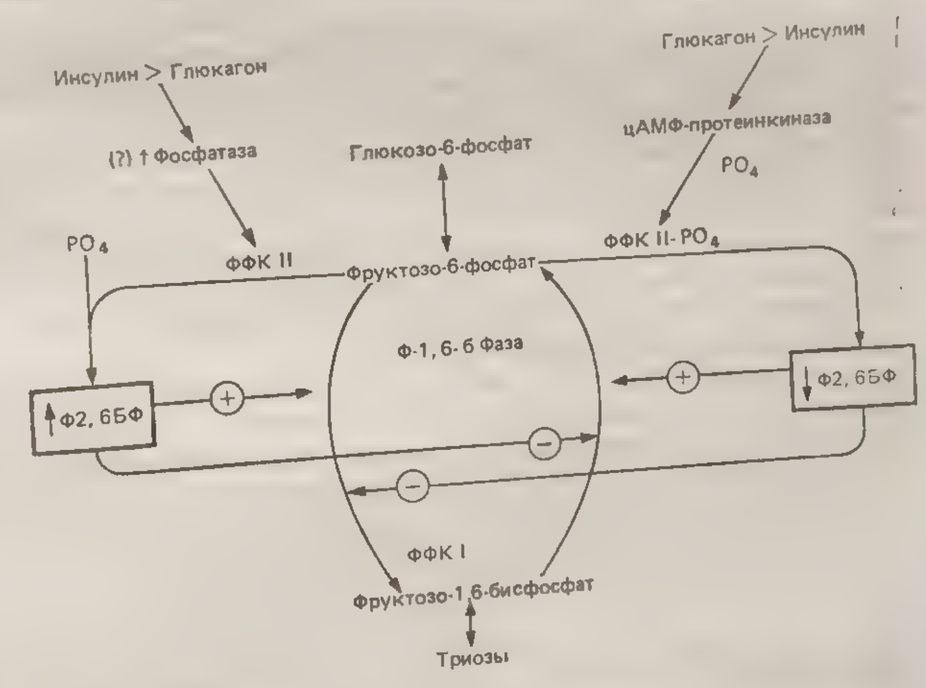


Рис. 14-16. Роль фруктозо-2,6-бисфосфата (Ф2, 6БФ) в регуляции фосфофруктокиназы I (ФФК I) и фруктозо-1,6-бисфосфатазы (Ф1,6-бФаза). Поток субстратов (по пути гликолиза или глюконеогенеза) регулируется изменением активности этих ферментов. (На основании данных Herg H. G. (1984). Biochem. Soc. Trans., **11**, 441; El-Maghrabi et al. (1982). J. Biol. Chem., 257, 7603.)

Понятно, что выяснение этого механизма вызвало огромный интерес (см., например, Foster). Однако его эстетическая привлекательность не должна затемнять тот факт, что (как отмечалось при обсуждении клеточного механизма действия инсулина) *одновременно* происходят изменения и реакций, катализируемых другими парами конкурирующих ферментов. Регуляцию на этапе действия пары фосфофруктокиназа I — фруктозо-1,6-бисфосфатаза можно считать лишь частью тех общих регуляторных эффектов, которые испытывает клетка при преобладании либо инсулина, либо глюкагона.

Так, *пируваткиназа*, при блокаде которой пируват направляется на путь образования глюкозы, в условиях преобладания инсулина оказывается *де*фосфорилированной из-за относительно низкой активности цАМФ-зависимой протеинкиназы. Это обеспечивает возможность поступления больших количеств пирувата в митохондрии.

Здесь *пируватдегидрогеназа* не только высвобождается от тормозного влияния благодаря низкой концентрации *ацетил-КоА*, но и дефосфорилируется, поскольку инсулин активирует ее фосфатазу (см. выше). Из-за низкой концентрации ацетил-КоА снижается активность *пируваткарбоксилазы*. В результате образуются большие количества цитрата, который легко попадает в цитозоль с помощью системы транспорта трикарбоновых кислот; при голодании и диабете эта система ингибируется ацил-КоА, но в данных условиях она активна. Цитрат расщепляется цитратлиазой на ацетил-КоА и оксалоацетат. Под действием ацетил-КоА-карбоксилазы ацетил-КоА превращается в малонил-КоА, и оба этих соединения попадают в сферу действия синтетазы жирных кислот. Как отмечалось выше, малонил-КоА ингибирует окисление жирных кислот на этапе, катализируемом карнитин-ацилтрансферазой I.

С позиций целесообразности весьма интересна судьба оксалоацетата в цитозоле. Поскольку гликолиз (путь Эмбдена — Мейергофа) в описываемых условиях резко активируется, образуется очень много НАД·Н. Поэтому оксалоацетат быстро превращается в малат. Декарбоксилирующая малатдегидрогеназа требует присутствия НАДФ и генерирует НАДФ·Н. Вся последовательность реакций, таким образом, представляет собой механизм трансформации восстановительных эквивалентов из НАД·Н в НАДФ·Н. Последний служит кофактором липогенеза точно так же, как НАД·Н необходим для глюконеогенеза. Дополнительное количество НАДФ·Н для липогенеза образуется в ходе первых двух реакций пентозофосфатного пути (первая из них показана на рис. 14-15, *Б*).

Стимуляция липогенеза инсулином одновременно определяется тремя процессами: 1) появлением в цитозоле субстрата

липогенеза в форме ацетил-КоА; 2) созданием нужного соотношения коферментов (генерация НАДФ·Н) и 3) *снятием* тормозных влияний с липогенеза, существующих при голодании и диабете. К этим тормозным влияниям относятся:

1) ингибирование глюкокиназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, ацетил-КоА-карбоксилазы и синтетазы жирных кислот, а также выхода цитрата из митохондрий высокими концентрациями ацил-КоА;

2) пониженная активность пируваткиназы, ацетил-КоА-карбоксилазы и пируватдегидрогеназы (под действием инсулина пируватдегидрогеназа дефосфорилируется). Первые два фермента — субстраты цАМФ-зависимой протеинкиназы;

3) низкая концентрация фруктозо-2,6-бисфосфата.

В результате пониженного образования цАМФ происходит также: а) уменьшение активности внутрипеченочной триацилглицерол-липазы и б) изменение активности чувствительных к цАМФ факторов, которые могут содержаться в митохондриальной мембране и принимать участие в формировании ее избирательной проницаемости по отношению к образующимся в митохондриях метаболитам.

Синтез жиров при голодании и диабете ингибируется жирными кислотами отчасти из-за дефицита α-глицеролфосфата, концентрация которого при активированном глюконеогенезе низка. Однако при резкой активации пути Эмбдена — Мейергофа образуется много α-глицеролфосфата, и он может вступать в реакцию этерификации с новообразованными молекулами ацил-КоА.

Синтез и распад белка

Известно, что инсулин способствует синтезу белка и обеспечивает положительный азотный баланс; антагонисты инсулина — глюкагон, катехоламины и кортизол — в целом оказывают противоположное влияние на общий синтез белка. Правда, один из антагонистов, а именно гормон роста, как и инсулин, представляет собой анаболический агент.

Регуляция синтеза и распада белка в скелетных и сердечной мышцах была предметом многочисленных исследований (см. Morgan et al., 1971; Goldberg et al.).

Синтез белка в мышцах стимулируется инсулином, аминокислотами с разветвленной цепью (лейцин, изолейцин, валин), глюкозой, кетоновыми телами и особенно физической нагрузкой. Синтез белка можно изучать по скорости включения в белок радиоактивно меченных аминокислот. Аналогично предварительное мечение белка радиоактивными аминокислотами и дальнейшая регистрация исчезновения метки из белка за определенное

время позволяет изучать процесс его катаболизма. Синтез и распад белка, подобно синтезу и распаду гликогена, регулируется координированно. Это означает, что при стимуляции синтеза тормозится распад, и наоборот.

Действие инсулина на фосфорилирование рибосомного белка S6 и инициацию трансляции, равно как и его влияние на индукцию ферментов, рассматривались выше при обсуждении клеточного механизма действия гормона.

Недостаточность и избыток инсулина

Этиология сахарного диабета: генетические факторы и факторы внешней среды

Существует много моделей (главным образом, у грызунов и хоямков) наследственных синдромов, сходных с сахарным диабетом у человека. Хотя характер проявления болезни в этих случаях может сильно варьировать, наследственная передача патологии не вызывает сомнений. Генетический анализ некоторых моделей позволил предположить, что заболевание обусловлено мутацией одного гена.

В свете этих данных, полученных на экспериментальных животных, интересно рассмотреть этиологию сахарного диабета у человека. Примерно до 1950 г. сахарный диабет считался единым заболеванием, более тяжело протекающим у детей и молодых людей, чем у лиц среднего возраста. Полагали, что во всех этих случаях имеет место одно и то же заболевание, наследуемое одинаковым образом. Хотя делались определенные оговорки в отношении гипотезы одного гена (например, «неполная пенетрантность»), лишь немногие исследователи выдвигали против нее серьезные возражения.

Представление о том, что диабет — это группа заболеваний, различающихся этиологией, биохимическими проявлениями и характером течения, начало развиваться около 1950 года. Было принято деление диабета на начинающийся в ювенильном возрасте, характеризующийся склонностью к кетозу, инсулинозависимый (тип I) и начинающийся в зрелом возрасте, не сопровождающийся кетозом, инсулинонезависимый (тип II). Эту классификацию формально утвердили в 1979 г. Поскольку многих больных диабетом нельзя полностью отнести к какой-либо из этих групп (например, больных MODY-диабетом, от англ. maturity oncet diabetes of Youth — диабет взрослого типа у детей), классификация 1979 г. в настоящее время пересматривается. Обнаружение новых синдромов (диабет, обусловленный образованием антител к рецепторам инсулина; диабет, обусловленный генетическим дефектом структуры инсулина, и семейная

проинсулинемия) обосновывает необходимость пересмотра старой классификации. С появлением радиоиммунологических методов определения инсулина и соединительного пептида (С-пептида) выяснилось, что больных диабетом I типа можно разделить на две большие группы: у одних в ответ на введение глюкозы С-пептид практически не секретируется, тогда как у вторых способность секретировать С-пептид (и следовательно, вероятно, инсулин) сохраняется, хотя эта реакция в той или иной степени нарушена. Кроме того, было установлено, что у многих больных диабетом II типа не только отсутствует дефицит инсулина, но и концентрация инсулина в сыворотке крови в ответ на введение глюкозы или другие стимулы возрастает даже значительнее, чем в норме, хотя и запаздывает во времени. Ретроспективно можно сказать, что на множественность этиологических факторов диабета указывали различные наблюдения. Некоторые из них приводятся ниже.

Подробное обследование идентичных (монозиготных) близнецов позволило обнаружить интересный факт: если конкордантность по диабету взрослого типа составляет 100%, то среди лиц, заболевших до 45-летнего возраста, она не превышает 50%. Таким образом, хотя эти высокие показатели, несомненно, подтверждают роль какого-то генетического фактора, меньшая конкордантность у более молодых людей указывает и на значение факторов внешней среды.

Недавно было показано, что предрасположенность к диабету I типа связана с локусом HLA-D на коротком плече шестой хромосомы. Этот участок обусловливает иммунологические реакции. Повреждения генов этой области создает предрасположенность к аутоиммунной деструкции β-клеток, вызываемой действием факторов внешней среды, сочетание которых в каждом отдельном случае может быть различным. Хотя связь с антигенами гистосовместимости доказана для диабета I, но не II типа, в этиологии последнего наверняка имеется выраженный генетический компонент, пусть даже без идентифицированных генетических маркеров. Некоторые специалисты считают, что основная причина при диабете II типа «кроется» в β-клетке, тогда как другие уделяют большее внимание резистентности клеток-мишеней к инсулину, считая именно это главной проблемой. Можно полагать, что обе точки зрения в действительности не исключают друг друга (см. Efendic et al.).

У больных инсулинозависимым диабетом часто обнаруживаются *антитела* к белкам островковых клеток, что указывает на аутоиммунный компонент патогенеза заболевания. Более того, у тех немногих больных с инсулинонезависимым диабетом, у которых выявляются подобные антитела, можно ожидать, вероятно, развития со временем зависимости от инсулина.

Уже много десятилетий для моделирования деструкции панкреатических β-клеток используется ряд *химических агентов*. При этом у экспериментальных животных наиболее широко применяются аллоксан и стрептозотоцин. Патология, которую они вызывают, очень похожа на инсулинозависимый диабет у человека.

Показано, что β-клетки могут избирательно поражаться *бета-тропными вирусами* (Graighead et al.). Существует много таких вирусов (например, вирус Коксаки В, цитомегаловирус, вирус кори, Эпштейна-Барр, эпидемического паротита), но проникновение в β-клетки in vitro показано только для последнего.

Если ко всем этих наблюдениям добавить *эпидемиологическую связь* между распространенностью паротита и других вирусных инфекций, с одной стороны, и ювенильного сахарного диабета — с другой, то параллелизм ряда экспериментальных моделей и заболевания у человека становится более очевидным. Действительно, описана одна модель на животных (см. Rossini et al.), в которой диабет обусловлен совместным действием химической интоксикации β-клеток, вирусной инфекции и реакциями клеточного иммунитета.

Еще в XIX в. обращали внимание на частое сочетание диабета с *ожирением*. Диабет обычно развивается и у экспериментальных животных с различными формами генетического ожирения, а у грызунов, страдающих гипоталамическим ожирением, возникает инсулинорезистентность (см. выше раздел о рецепторах инсулина).

Вероятно, следует заключить, что *проявления* диабета в каждом отдельном случае представляют собой интегрированную реакцию на совместное действие многочисленных факторов в разных сочетаниях (генетической предрасположенности, химических и инфекционных факторов внешней среды, аутоиммунных процессов, питания, физической активности, психологических стрессов и т. д.).

Эти представления схематически обобщены на рис. 14-17.

Патофизиология диабетического кетоацидоза

Нет лучшего способа убедиться в значении инсулина для организма, чем проанализировать последствия внезапной отмены этого гормона. При этом у животных или людей с тяжелым диабетом отчетливо проявляется сложная последовательность взаимосвязанных событий, и, если не принять срочных мер, неизбежно возникает кома или смерть. Эти события затрагивают не только углеводный, но и жировой, белковый, электролитный и водный обмен. Дефицит инсулина сказывается на функционировании дыхательной системы, ЦНС, сердечно-сосудистой систе-

мы, почек и желудочно-кишечного тракта. Отмена инсулина позволяет беспрепятственно действовать его антагонистам.

То, что происходит у больных диабетом, лишенных инсулина, — это страшная карикатура на нормальную адаптацию к голоданию. Возникают многие сдвиги того же характера, но чрезвычайно усиленные. Начинающему студенту зачастую трудно понять взаимосвязи многих симптомов, проявляющихся более или менее одновременно. Поэтому мы произвольно разделим описание предмета на три части с тем, чтобы показать потом взаимодействие всех этих процессов. Обсуждение будет проводиться на уровне целостного организма животного или человека.

Углеводный обмен

Первичный фактор — относительная недостаточность инсулина. У больных диабетом это не обязательно означает полное отсутствие инсулина. Скорее речь идет о внезапном и неожиданном возрастании потребности в нем. Приступ ацидоза может вызываться инфекцией, физической травмой, эмоциональным стрессом, т. е. всеми обстоятельствами, повышающими потребность в инсулине. В других случаях ацидоз может определяться погрешностями в режиме инсулинотерапии. Часто при этом воз-

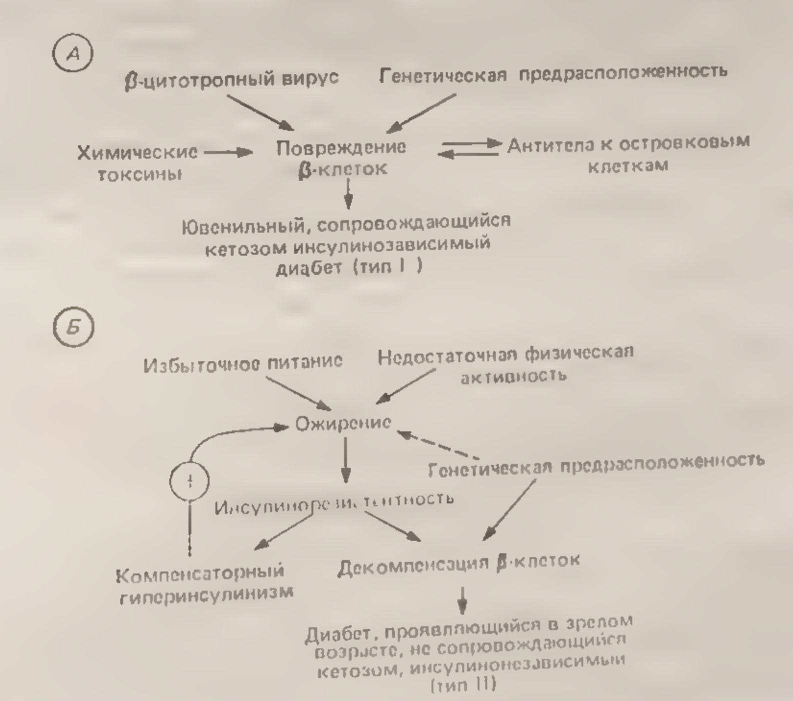


Рис. 14-17. *А* и *Б* — основные положения современных теорий этиологии диабета.

никают тошнота и рвота, препятствующие приему пищи и воды.

При дефиците инсулина снижается утилизация глюкозы периферическими тканями, в основном мышечной и жировой. Это в какой-то степени обусловливает развитие гипергликемии, которая дополнительно возрастает в результате гликогенолиза в печени и мышцах. (В повышении концентрации сахара в крови играет роль и глюконеогенез.) Когда концентрация глюкозы превысит почечный порог, начинается глюкозурия и возникает осмотический диурез. Это лежит в основе полиурии — первого симптома диабета, известного еще в древности.

Потеря воды и электролитов с мочой, не компенсируемая их поступлением, в организм, приводит к дегидратации и гемоконцентрации. Это в свою очередь вызывает недостаточность периферического кровообращения из-за резкого падения объема циркулирующей крови, или шока. Одна из характерных особенностей шока — это гипотония, приводящая к снижению почечного кровотока (иногда вплоть до полной анурии). Генерализованная аноксия тканей, приводящая к смещению метаболизма в сторону анаэробного гликолиза, обусловливает повышение концентрации молочной кислоты в крови. Спустя некоторое время после возникновения недостаточности периферического кровообращения развивается кома. В отсутствие лечения неизбежно наступает смерть. Описанная последовательность событий графически представлена на рис. 14-18.

ДЕФИЦИТ ИНСУЛИНА
Снижение утилизации глюкозы
Гликогенолиз в печени и мышцах
Гипергликемия
Тошнота и рвот
Глюкозурия осмотический диурез
Потеря воды и электролитов
Дегидратация
Гемоконцентрация
Недостаточность периферического кровообращения
Гипотезия
Снижение почечного кровотока
Анурия
КОМА И СМЕРТЬ

Рис. 14-18. Влияние дефицита инсулина на углеводный обмен.

Жировой обмен

Относительная недостаточность инсулина и снижение утилизации глюкозы жировой тканью организма приводит к значительному «опустошению» жировых депо. В результате может возникать вторичная гипертриглицеридемия, так как в печени из СЖК синтезируются липопротеины очень низкой плотности.

В печени увеличивается содержание жиров, бóльшую часть которых она по описанным выше причинам способна окислять только до стадии ацетил-КоА. Затем двухуглеродные фрагменты образуют ацетоуксусную и β-оксимасляную кислоты, концентрация которых в венозной крови, оттекающей от печени, возрастает. Развивающаяся кетонемия имеет два основных следствия: 1) она усугубляет метаболический ацидоз, приводя тем самым к характерному глубокому и быстрому дыханию (Kussmaul), которое служит одним из диагностических признаков диабетического ацидоза; 2) когда кетонемия превысит почечный порог реабсорбции кетоновых тел, последние появляются в моче. Их экскреция почками уменьшает содержание в организме связанных оснований, что дополнительно ведет к потере натрия. Это

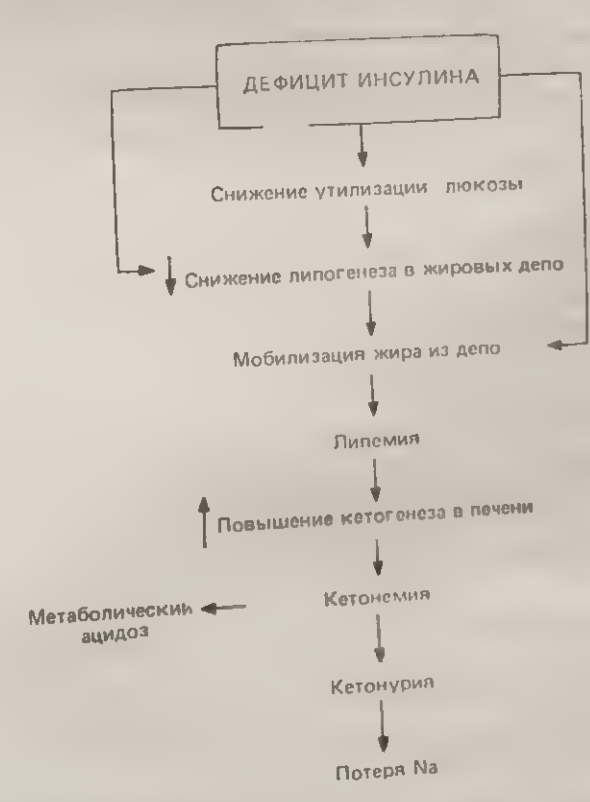


Рис. 14-19. Влияние дефицита инсулина на жировой обмен.

означает ослабление ионного «скелета» внеклеточной жидкости и тем самым прогрессирующее уменьшение способности организма «удерживать» воду. Последовательность описанных процессов суммирована на рис. 14-19.

Белковый обмен

Лишение организма инсулина и нарушение утилизации глюкозы приводит к снижению синтеза белка и поэтому к преобладанию его распада, прежде всего в инсулиночувствительных тканях, особенно мышцах. Этот процесс сопровождается потерей организмом азота, а также выходом K^+ и других внутриклеточных ионов в кровь с последующей экскрецией K^+ с мочой.

Дефицит инсулина сказывается на функциях клеток не только из-за нарушения обмена белков, но и из-за других эффектов. Например, прогрессирующая потеря воды приводит в конце концов к внутриклеточной дегидратации, которая способствует катаболическим процессам и диффузии электролитов во внеклеточную жидкость. Пока продолжается выделение мочи, существует опасность потери организмом K^+ во все более угрожающих количествах. На рис. 14-20 суммирована последовательность описанных изменений.

Инсулинорезистентность при ацидозе

При тяжелом кетоацидозе больные люди и экспериментальные животные приобретают резистентность к инсулину. Лечение

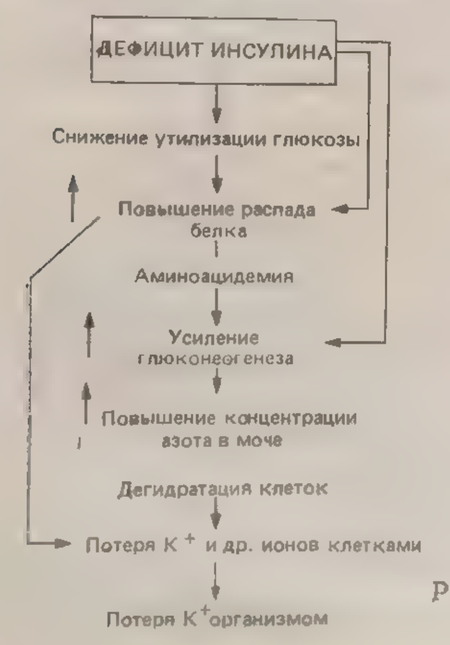


Рис. 14-20. Влияние дефицита инсулина на белковый обмен.

диабетического ацидоза даже «низкими дозами» инсулина приводит к тому, что его концентрация в крови в 4—15 раз превышает норму. По-видимому, инсулинорезистентность в данных условиях вызывается различными причинами, в частности: 1) высоким уровнем свободных жирных кислот в крови; 2) высокими концентрациями физиологических антагонистов инсулина (глюкокортикоидов, глюкагона, катехоламинов, гормона роста); 3) самим ацидозом.

Катберт и Альберти (Cuthbert, Alberti) на основании экспериментов на крысах с тяжелым диабетическим ацидозом пришли к заключению, что основной причиной инсулинорезистентности в этих условиях служат сами ионы водорода. Этот вывод основывался на следующих фактах: 1) исчезновение инсулинорезистентности при введении бикарбоната натрия и 2) появление инсулинорезистентности у здоровых крыс при воспроизведении у них ацидоза с помощью хлорида аммония. Ацидоз препятствует действию инсулина, нарушая гормон-рецепторное взаимодействие на плазматической мембране, а также угнетая гликолиз на этапе фосфофруктокиназы. Бикарбонат натрия использовался в этих исследованиях в качестве экспериментального соединения. С его помощью нельзя ликвидировать все метаболические и циркуляторные сдвиги при диабетическом кетоацидозе, хотя его можно применять в качестве дополнительного средства лечения (см. Ginsberg). На рис. 14-21 представлена схема всех рассмотренных изменений.

Влияние кетоацидоза на функцию гемоглобина

Механизм влияния ацидоза и дегидратации на способность гемоглобина переносить O_2 показан на рис. 14-22. Образующаяся при гликолизе 2,3-бисфосфоглицероловая кислота (2,3-БФГ) является аллостерическим модулятором гемоглобина (на рис. 14-22 (1)). Когда ее концентрация в эритроцитах падает, сродство гемоглобина к кислороду возрастает, а его способность отдавать O_2 в тканях уменьшается. К факторам, регулирующим образование 2,3-БФГ в эритроцитах, относится доступность фосфата. При его дефиците уровень 2,3-БФГ снижается, при избытке — может возрастать.

При сочетании ацидоза и дегидратации содержание 2,3-БФГ в эритроцитах падает. Это приводит к повышению сродства гемоглобина к O_2 и уменьшению поступления его в ткани через капиллярные стенки. Таким образом, кислородное снабжение тканей, нарушенное из-за недостаточности периферического кровообращения, еще больше ухудшается (на рис. 14-22 (2)).

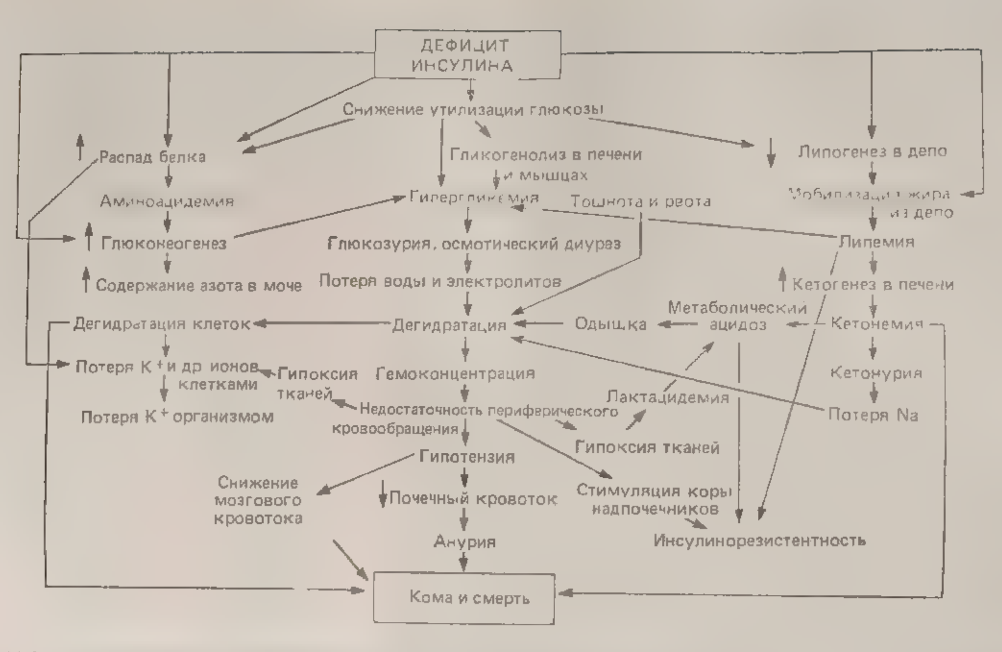


Рис. 14-21. Патофизиология диабетического ацидоза. Следует обратить внимание на связи между всеми тремя видами обмена веществ.

При обычном лечении кетоацидоза (на рис. 14-22 (3)) удается восстановить объем жидкости и снять дефицит инсулина, но одним из результатов действия самого инсулина является снижение концентрации фосфата в сыворотке. Низкий уровень PO_4 препятствует восстановлению содержания 2,3-БФГ в эритроцитах, и поэтому возможно стойкое нарушение доставки O_2 тканям. Однако если дополнить лечение введением фосфата и таким образом нормализовать его концентрацию в сыворотке (рис. 14-22 (4)), то и функция гемоглобина может восстановиться.

Резюме

При объединении всех перечисленных изменений на одной схеме выясняются некоторые существенные моменты (см. рис. 14-21). Прежде всего, отчетливо видна общая отправная точка возникающих нарушений. Во-вторых, наглядно выступают сложные взаимосвязи между углеводным, жировым, белковым, электролитным и водным обменом. Наконец, схема иллюстрирует рассмотренные выше причинно-следственные отношения; она дает некоторые представления о сложности патогенеза данного состояния и показывает, что многие взаимосвязанные нарушения возникают одновременно. Приведенная схема иллюстрирует очевидные пути лечения больных с ацидозом. При наличии шока нужно принимать меры к увеличению эффективного объема циркулирующей крови, что предполагает введение жидкости и электролитов. Ацидоз уменьшается при введении бикарбоната натрия. Поскольку весь процесс возникает вследствие дефицита инсулина, необходимо вводить этот гормон, причем при выраженном шоке, когда вероятность всасывания инсулина из подкожного депо мала, это следует делать внутривенно. Несмотря на то что концентрация глюкозы в крови может быть очень высокой, истощение запасов гликогена в мышцах и печени обычно

(1) [2,3-бисфосфоглицероловая кислота] в эритроцитах ↑ под действием PO_4 и ↓ при дефиците PO_4

(2) Ацидоз, Дегидратация → ↓[2,3-БФГ] в эритроцитах → ↑ сродство Hb к O_2 → ↓ Поступление O_2 в ткани

(3) Лечение ацидоза (инсулин, жидкости, электролиты) → ↓ PO_4 в сыворотке → Сохранение ↓[2,3-БФГ] → Сохранение ↓ поступления O_2 в ткани

(4) Лечение ацидоза (как в п. 3 + PO_4) → нормализация PO_4 в сыворотке
Нормальная [2,3-БФГ] в эритроцитах Нормальное поступление O_2 в ткани

Рис. 14-22. Влияние кетоацидоза на функцию гемоглобина. 2,3-БФГ — 2,3-бисфосфоглицероловая кислота.

настолько велико, что уже вскоре после начала лечения возникает необходимость во введении углеводов. В последние годы все большее внимание уделяют возникающему у некоторых больных дефициту ионов K^+, и для коррекции электролитных сдвигов вводят (с осторожностью) содержащие калий препараты. После ликвидации острой фазы, когда больной сможет пить, часто дают К-содержащие напитки, такие, как фруктовые соки. В ходе лечения тщательно оценивают общее состояние больного и регистрируют артериальное давление. Об эффективности лечения можно судить по концентрации глюкозы в крови, напряжению в ней CO_2, содержанию К и остаточного азота в сыворотке. За адекватностью введения К обычно следят с помощью электрокардиографии. По мере поступления из лаборатории количественных данных врач может менять схему лечения. Когда о патогенезе кетоацидоза знали гораздо меньше, чем сейчас, результаты его лечения были неутешительными: смертность оставалась высокой. В настоящее же время, по данным одной из типичных клиник смертность составляет 1,5%.

Поздние осложнения диабета

Выяснение патофизиологии диабетического кетоацидоза резко снизило смертность среди больных диабетом. Однако, несмотря на то что инсулин для лечения диабета применяется уже с 1922 г., для больных любого возраста (но особенно молодых) ожидаемая продолжительность жизни меньше, чем для здоровых лиц соответствующего возраста. Одна из причин повышенной смертности при диабете показана на рис. 14-23 (см. Goodkin). Бóльшая часть смертельных исходов связана с одним или несколькими поздними осложнениями диабета, а именно:

1. *Макроангиопатией*, проявляющейся обычно атеросклерозом сосудов мозга, сердца или почек или сосудов конечностей (особенно голени и стопы).
2. *Микроангиопатией*, особенно изменением в капиллярах почек или сетчатке глаза.
3. *Нейропатией* — нарушением проводимости периферических или вегетативных нервов или тех и других вместе.

Макроангиопатия

Атеросклероз, который у больных диабетом развивается раньше обычного, неотличим от возрастного атеросклероза крупных сосудов у лиц без диабета. Действительно, считают, что диабет, даже при общепринятом лечении инсулином, характеризуется ускоренным старением организма. С диабетом связано много случаев инсульта, инфаркта миокарда и большинство ампутаций по поводу гангрены пальцев ног или стоп.

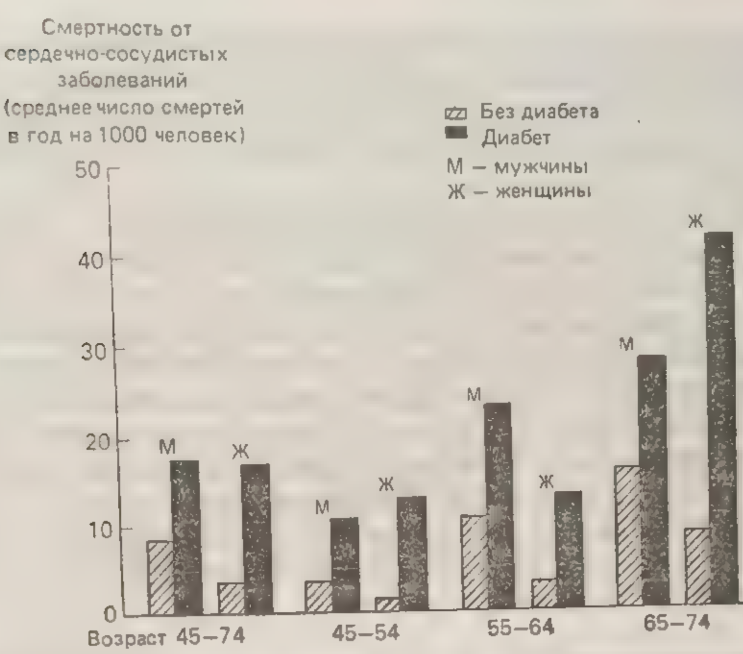


Рис. 14-23. Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний среди лиц с диабетом и без него.

Хотя здесь не совсем уместно рассматривать причины атеросклероза, все же полезно было бы коснуться современных представлений о патогенезе этого состояния и попытаться объяснить, по крайней мере отчасти, каким образом диабет может ускорять его развитие.

На рис. 14-24 приведена схема патогенеза атеросклероза, основанная главным образом на представлениях о роли тромбоцитов (Ross, Glomset; Colwell et al.), гормона роста (Ledet) и липопротеинов (Lopes-Virella et al.). Повреждение эндотелия артерий приводит к повышению его проницаемости. Адгезия тромбоцитов к поврежденному эндотелию сопровождается местным выделением митогена, который стимулирует пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток. Эти клетки, подобно макрофагам, накапливают липиды, в том числе холестерол, что связано с повышенной концентрацией липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), т. е. холестерола в крови. Повреждающие эффекты ЛПНП ослабляются липопротеинами высокой плотности (ЛПВП), которые способствуют удалению холестерола из крови. Липиды накапливаются под эндотелием, просвет сосуда сужается и в конце концов полностью исчезает.

Диабет может ускорить этот процесс по крайней мере тремя путями: 1) под действием избыточного количества гормона роста может усиливаться пролиферация гладкомышечных клеток (Ledet); 2) повышенный синтез тромбоксана способствует адгезии тромбоцитов и выделению митогена (Halushka et al.; Waitz-

man et al.) и 3) при диабете как одно из проявлений характерной липемии повышен уровень ЛПНП и снижено содержание ЛПВП (Lopes-Virella). В результате пагубный эффект ЛПНП усиливается (см. следующий раздел о гликозилированных белках).

Все эти механизмы, возможно, не позволяют полностью объяснить предрасположенность больных диабетом к атеросклерозу. Рядом с геном инсулина обнаружен участок ДНК, состоящий из 2500 пар оснований (U-аллель), который служит постоянным генетическим маркером предрасположенности к атеросклерозу не только при типе II, но и при типе I сахарного диабета, а также у лиц без диабета. Таким образом, предрасположенность к атеросклерозу может быть генетической и реализоваться у больных диабетом чаще, чем у лиц без диабета, а если и не чаще, то какие-то характерные для диабета метаболические изменения все же могут усиливать эффект генетического компонента (Mandrup-Poulsen et al.).

Микроангиопатия

Поражение микрососудов — капилляров и примыкающих к ним сосудов — при диабете чаще всего проявляется заболеваниями почек и сетчатки глаза. Поражение почек в результате как макро-, так и микроангиопатии служит в настоящее время основной причиной смерти молодых больных сахарным диабетом (болезнь Киммелстила — Уилсона). Диабет в настоящее

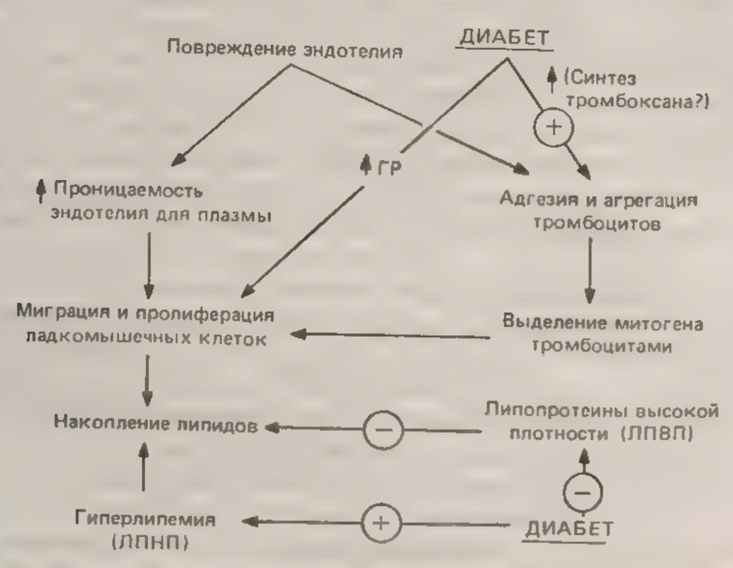


Рис. 14-24. Возможные последствия влияния диабета на атерогенез. (Подробнее липопротеины рассматриваются в гл. 15.)

время — одна из наиболее частых причин слепоты. В последние два десятилетия эта проблема интенсивно изучается с помощью тонких морфологических и биохимических методов.

Биохимические подходы к изучению микроангиопатии. Базальную мембрану почечных клубочков можно выделить с помощью дифференциального центрифугирования в относительно чистом виде и подвергнуть химическому анализу. Основной белковый компонент базальной мембраны клубочков — коллагеноподобный гликопротеин. Спиро (Spiro, см. Клод Бернаровскую лекцию) показал, что базальная мембрана клубочков, полученных от крыс с диабетом, содержит избыточные количества углеводов. Более того, в почках таких крыс повышена активность одного из ферментов, ответственных за посттрансляционную модификацию гликопротеинов, а именно глюкозилтрансферазы, причем с увеличением продолжительности диабета от 4 до 20 недель активность этого фермента прогрессивно возрастает. Лечение инсулином приводит к нормализации активности фермента. Спиро предположил, что, хотя недостаточность инсулина снижает утилизацию глюкозы инсулино*зависимыми* клетками, гипергликемия, обусловленная этой недостаточностью, резко стимулирует использование глюкозы в определенных реакциях, протекающих в инсулино*независимых* клетках. В результате таких реакций могут образовываться продукты, играющие важную роль в патогенезе диабета или отражающие эффективность лечения. К этим реакциям относятся:

1. Синтез гликопротеинов базальной мембраны почечных клубочков.
2. Превращение сорбитола во фруктозу (*нервы: хрусталик, семенные пузырьки*).
3. Синтез гликопротеинов (*жидкость стекловидного тела глаза*).
4. Синтез гемоглобина A_{1c} (см. следующий раздел).

Гипергликемия, гемоглобин A_{1c} и другие гликозилированные белки. Гемоглобин A_{1c} представляет собой минорный компонент гемоглобина, который при хроматографии отделяется от HbA — основного вида гемоглобина. HbA_{1c} образуется неферментативно путем ковалентного связывания глюкозы с N-концевыми валинами β-цепей HbA. В норме эритроциты накапливают HbA_{1c} после достижения ими возраста более 120 дней. Синтез HbA_{1c} зависит от концентрации глюкозы в крови. Поэтому у больных диабетом в отсутствие лечения уровень HbA_{1c} выше, чем у здоровых людей, а лечение диабета нормализует этот показатель (9,8% от общего содержания Hb до лечения и 5,8% — после него).

Поскольку однократное определение концентрации глюкозы в крови или моче не отражает колебаний гликемии в течение

суток, недель или месяцев и поскольку определять концентрацию глюкозы день и ночь у большого числа больных диабетом невозможно, постольку косвенный показатель средней концентрации глюкозы в крови за длительный период времени должен быть весьма полезным. Таким показателем и может служить уровень HbA_{1c}, поскольку скорость его образования пропорциональна произведению концентрации глюкозы в эритроцитах на время. Иными словами, он представляет собой интегральную площадь под кривой гипергликемии.

Показателем гипергликемии за меньшее время может служить и гликозилированный альбумин (период полураспада гемоглобина около 60 сут, а альбумина — около 20). Преимущество определения альбумина заключается в том, что его можно осуществлять в длительно хранящихся (обычно замороженных) пробах сыворотки или плазмы и тем самым проводить ретроспективные исследования.

Избыточное гликозилирование и других белков, кроме гемоглобина и альбумина, может играть определенную роль в патогенезе многих нарушений, связанных с некоторыми поздними осложнениями диабета. Гипергликемия обусловливает неферментативное ковалентное гликозилирование многих долгоживущих структурных белков и ферментов, а также белков, которые, подобно гемоглобину и альбумину, имеют относительно короткий срок жизни (Brownlee et al.). Некоторые из них принимают участие в осуществлении важных физиологических функций, а гликозилирование может нарушать последние. Ниже приведены примеры таких белков.

Белок	*Патофизиологические проявления*
Белок (белки) мембраны эритроцитов	Деформация эритроцитов
Белки свертывающей системы крови	Нарушение свертывания крови
Белок клеточной мембраны эндотелия	Нарушение проницаемости сосудов
Белки хрусталика и его капсулы	Нарушение зрения
Белок базальной мембраны клубочков	Патология почечных клубочков
Коллаген	Нарушение рубцевания ран
Тубулин и миелин	Патология нервной системы
Переносчики глюкозы	Инсулинорезистентность

Один из особенно интересных примеров серьезных последствий гликозилирования, обусловленного гипергликемией, связан с гликозилированием апопротеинов ЛПНП. Оно нарушает связывание ЛПНП с рецепторами и тем самым препятствует удалению этих соединений из крови, что способствует увеличению

концентрации холестерола в крови. Гликозилирование апопротеинов ЛПВП, участвующих в элиминации холестерола, приводит к *ускорению* их исчезновения из крови. В результате возрастает отношение ЛПНП : ЛПВП, о чем вкратце говорилось выше. (Более подробно механизмы транспорта липидов рассматриваются в гл. 15.)

Диабетическая нейропатия

Нарушение функции нервов уже давно относили к проявлениям диабета. Диабетическая нейропатия может затрагивать деятельность практически любой системы организма и имитирует многочисленные неврологические заболевания. В процесс могут вовлекаться чувствительные, двигательные и вегетативные нервы. Нарушение чувствительности играет важную роль в образовании язв стопы. Дисфункция вегетативной нервной системы может проявляться в виде постуральной гипотензии, нарушений функций желудочно-кишечного тракта и мочевого пузыря, импотенции и ряда других расстройств. При исследовании нервов больных диабетом во многих случаях отмечается демиелинизация (при световой микроскопии) и истончение миелинового покрова (при электронной микроскопии), но нарушение функции нервов может иметь место и без таких изменений.

Несмотря на огромное количество работ, посвященных диабетической нейропатии, в настоящее время можно лишь предположительно назвать феномены, определяющие развитие этого осложнения. *Миелин* представляет собой сложный изоляционный материал, состоящий из триацилглицеролов, холестерола, фосфолипидов, гликолипидов и белков. При экспериментальном и клиническом диабете в отсутствие лечения описано изменение химической структуры или количества всех этих компонентов. Многие нарушения поддаются коррекции с помощью заместительной терапии инсулином.

В патогенезе диабетической нейропатии (равно как и возникновения катаракты и развития макроангиопатии), вероятно, имеет значение упомянутый выше *сорбитоловый путь* метаболизма глюкозы. Его можно представить следующей цепью реакций:

$$1)\ \text{Глюкоза} \xrightarrow[\text{НАДФ·Н}]{\text{Альдозоредуктаза}} \text{Сорбитол} + \text{НАДФ},$$

$$2)\ \text{Сорбитол} \xrightarrow[\text{НАД}]{\text{Сорбитолдегидрогеназа}} \text{Фруктоза} + \text{НАД·Н}.$$

Интенсивность этого пути определяется доступностью глюкозы. Таким образом, гипергликемия активирует сорбитоловый путь, что приводит к накоплению сорбитола и фруктозы и тем самым

к осмотическим сдвигам во внутриклеточной среде. Последнее снижает потребление кислорода нервными клетками (и, вероятно, нарушает их функцию). Поскольку описанные реакции при снижении степени гипергликемии обратимы, такой подход (т. е. коррекция гликемии) представляется более целесообразным, нежели попытки фармакологического ингибирования альдозоредуктазы, приводящие к снижению концентрации сорбитола в нервах животных с диабетом и рекомендуемые в качестве дополнительного способа лечения больных с диабетической нейропатией.

Миоинозитол — циклический гекситол, который синтезируется в нервных клетках из глюкозы и включается в фосфатидилинозитол, служащий предшественником различных фосфолипидных компонентов мембран. Показано, что в нервах крыс, страдающих диабетом, концентрация свободного инозитола снижена (Green et al.). Более того, если эти крысы получали инозитол с кормом (1%), наблюдалось улучшение нервной проводимости, несмотря на сохранение диабета. Исследователи полагают, что нарушение нервной проводимости связано с дефектом метаболизма миоинозитола, сопровождающим инсулинодефицитный диабет. Точный механизм этих изменений не расшифрован.

Нейроны должны транспортировать новосинтезированные белки, нейромедиаторы и другие вещества из тела клетки по аксонам различной длины. Это осуществляется с помощью *тока аксоплазмы*. Показано, что при нелеченом диабете нарушается аксоплазматический ток, причем с улучшением диабетического состояния это нарушение исчезает. В настоящее время трудно решить, какое из упомянутых выше биохимических изменений — сорбитоловый путь, миоинозитоловый путь, гликозилирование ключевых белков (таких, как тубулин) — играет основную роль (и играет ли вообще) в развитии физиологических нарушений. Возможно, все они имеют определенное значение. Важно обратить внимание на то, что *общая черта всех упомянутых нарушений — их исчезновение в условиях лечения гипергликемии*, по крайней мере до развития макроморфологических изменений, таких, как демиелинизация. Это, по-видимому, подтверждает широко распространенное мнение, что методы введения инсулина, максимально близко имитирующие функцию β-клеток, смогут предотвратить многие осложнения диабета или хотя бы задержать их развитие (см. следующий раздел).

Компенсация диабета и экспериментальные системы введения инсулина

Вскоре после открытия инсулина между диабетологами разгорелся спор о сравнительных преимуществах очень жесткой или более мягкой компенсации диабета. Сторонники «жесткого кон-

троля» стремились к полной ликвидации глюкозурии, тогда как их оппоненты предпочитали не доводить до этого. Первые исходили из предположения, что нормализация концентрации глюкозы в крови в течение длительного времени должна уменьшать вероятность развития осложнений диабета. Вторые же указывали на то, что повторные эпизоды гипогликемии, сопровождающие чрезмерно усердные попытки полностью нормализовать уровень сахара в крови, могут вызывать повреждение мозга, особенно у маленьких детей.

Действительно, то, что отражает «жесткий контроль», а именно устойчивое отсутствие глюкозы в моче, не свидетельствует о полном благополучии. Когда появились способы, позволяющие в течение длительного времени (48 ч и более) определять концентрацию глюкозы в крови с очень большой частотой, оказалось, что даже у тех больных диабетом, у которых по данным клинических лабораторий, заболевание контролировалось «жестко», на самом деле в течение большей части суток имелась гипергликемия; это происходит несмотря на использование различных препаратов инсулина и их комбинаций (см. Molnar et al.).

Выяснилось, что необходимы другие, более физиологичные методы введения инсулина, которые предупреждали бы гипергликемию и в то же время не приводили к развитию гипогликемии. Короче говоря, перед исследователями встала задача максимально близко воспроизвести нормальную функцию островковой ткани поджелудочной железы с ее способностью адекватно реагировать на изменение окружающей химической среды.

Стратегическая разработка этой важной проблемы шла по трем основным направлениям: 1) пересадка поджелудочной железы, изолированных островков и β-клеток, 2) создание механического сенсора с насосом («искусственная поджелудочная железа») и 3) введение инсулина через портативный программируемый насос.

Исследования по трансплантации. Методика отделения островков от экзокринной ткани поджелудочной железы с помощью коллагеназы (Lacy) позволила осуществить *трансплантацию островков* у экспериментальных животных (см. Kemp et al.). Возникла надежда, что подобную операцию можно произвести и у человека. У крыс инбредных линий (сингенных) введение суспензии островков в воротную вену нормализует концентрацию глюкозы в крови при тяжелом диабете на много месяцев. Основное препятствие для трансплантации — отторжение пересаженных тканей из-за гистонесовместимости донора и реципиента.

В 1979 г. Лейси с сотр. (Lacy et al.) объявили о значительном успехе в решении проблемы отторжения. Этим авторам

удалось обеспечить длительную толерантность крыс-реципиентов к трансплантатам, взятым у генетически отличных животных. Для этого островки до пересадки культивировали в течение семи дней при 24 °C, а реципиентам однократно вводили антилимфоцитарную сыворотку. Такие островки «излечивали» диабет и более 100 сут сохраняли функциональную активность.

Пересадка поджелудочной железы человеку была впервые осуществлена в 1966 г., но через несколько недель произошло отторжение трансплантата. С этого момента и до 1982 г. было произведено 337 пересадок поджелудочной железы. К декабрю 1983 г. функционировало 59 трансплантатов, но только 31 из них продуцировал инсулин в течение 12 месяцев или несколько меньше. У пяти больных диабет компенсировался в течение 37 месяцев и более, в том числе у одного — в течение 65 месяцев. У большинства таких больных имелись тяжелые поражения почек, и поэтому их нельзя считать идеальным объектом проверки эффективности трансплантации поджелудочной железы для компенсации диабета. Однако многие больные, отобранные для операции, начиная с 1980 г. уже не входили в эту группу. Использование циклоспорина в качестве иммуносупрессора, как правило, повышало выживаемость.

Половина группы в 79 человек, которым производили аутотрансплантацию островков Лангерганса (после резекции поджелудочной железы по поводу рака или панкреатита), не нуждались в инсулине. Эти пионерские работы требовали огромных усилий и энтузиазма. Можно надеяться, что через некоторое время при несомненных успехах иммуносупрессии многих больных диабетом типа I будут лечить этим способом или применять какую-то его модификацию. Однако сейчас еще невозможно сравнивать эффективность трансплантации с эффективностью улучшенных методов введения инсулина (см. следующий раздел).

Подробнее о мировом опыте в области трансплантации поджелудочной железы — см. Sutherland.

Искусственная поджелудочная железа. Показано, что с помощью довольно громоздкой аппаратуры, включающей анализатор глюкозы, компьютер, необходимые насосы и резервуары для инсулина и глюкозы, можно достаточно хорошо имитировать функцию островковых клеток и регулировать концентрацию глюкозы в крови (Albisser et al.). Зная, в каком объеме распределяются вводимые вещества, можно запрограммировать компьютер таким образом, чтобы в организм больного поступали нужные дозы инсулина (при повышении концентрации глюкозы в крови) или глюкозы (при снижении ее концентрации), и тем самым поддерживать концентрацию глюкозы в крови в заданных пределах.

Значительные успехи были достигнуты в области микроминиатюризации искусственной поджелудочной железы. Существуют датчики, преобразующие колебания концентрации глюкозы крови в электрические сигналы; микрокомпьютеры определяют по этим сигналам потребность в инсулине, а снабженные насосом емкости с инсулином реагируют на команды компьютеров (см. Soeldner et al.). Есть надежда, что в продаже появятся подобные вживляемые аппараты, по размерам сходные с кардиостимуляторами или даже меньше их, которые можно будет имплантировать на длительные сроки. Основная трудность при таком подходе — это «биологическая совместимость» инородного тела, которое должно в течение долгого времени контактировать с жидкими средами организма.

Программируемый портативный дозатор инсулина. Физиологическая регуляция концентрации глюкозы в крови и попытки имитировать ее с помощью искусственной поджелудочной железы представляют собой информационные системы с «замкнутой» обратной связью, т. е. повышение концентрации глюкозы в крови обусловливает секрецию инсулина, которая снижает гликемию, вследствие чего выбрасываются контррегуляторные гормоны и восстанавливается равновесный уровень глюкозы в крови. В настоящее время во многих странах испытываются разнообразные программируемые портативные насосы для инфузии инсулина, которые должны контролировать уровень глюкозы в крови по принципу «открытого контура». Типичный насос снабжен резервуаром с многодневным запасом инсулина, который подается малыми порциями между приемами пищи (для имитации нормальной деятельности поджелудочной железы); программа составляется с учетом индивидуальных потребностей в инсулине, чтобы нужное количество его поступало в организм непосредственно перед каждым приемом пищи. Информационная петля «замыкается» не только за счет мобилизации антагонистов инсулина, но и за счет самоконтроля концентрации глюкозы в крови (с помощью широко доступного в настоящее время прибора) с последующей сознательной оценкой больным необходимости коррекции дозировки инсулина в соответствии со своими потребностями. Общепринято, что такой способ, называемый «непрерывной подкожной инфузией инсулина», более эффективно нормализует концентрацию глюкозы в крови, чем обычная инсулинотерапия.

В трудах недавно прошедшей конференции, посвященной этому вопросу (Rodger, ed.), обобщен опыт проводимого несколькими центрами изучения влияния непрерывной подкожной инфузии инсулина на осложнения диабета. Установлено, что по сравнению с обычной инсулинотерапией этот способ обеспечивает лучшую регуляцию не только гликемии, но и уровня лак-

тата и кетоновых тел в крови. При этом существенно уменьшается и экскреция альбумина у больных с микроальбуминурией, что указывает на благоприятный эффект в отношении развивающегося поражения базальной мембраны почечных клубочков. К сожалению, однако, данный метод либо не влияет на развитие диабетической ретинопатии, либо даже ухудшает ее течение. Это указывает на то, что прогрессирование диабетической ретинопатии зависит не только от гипергликемии, но и от других факторов. Интересующийся этой проблемой читатель может найти ссылки на соответствующую литературу в трудах упомянутой конференции.

Одно из последствий длительного тяжелого диабета типа I — это сочетанная *недостаточность контррегуляторного действия глюкагона и адреналина.* Поэтому защитная реакция при инсулиновой гипогликемии оказывается нарушенной. У некоторых больных с инсулинозависимым диабетом, входящих в данную группу, в ходе лечения непрерывной подкожной инфузией инсулина возникают опасные приступы гипогликемии. В ряде центров данный метод применяют только после получения положительных результатов проб на сохранность реакции контррегуляторных гормонов.

Контррегуляторная недостаточность является, вероятно, отражением диабетической нейропатии и поэтому вторична по отношению к диабету. Возможность коррекции этой недостаточности путем жесткого контроля концентрации глюкозы в крови зависит от степени обратимости нейропатии (подробный обзор данных о контррегуляции и гипогликемии см. Cryer, Gerich, а также Unger, 1983).

Диабет и физическая нагрузка

Физические нагрузки препятствуют ожирению, улучшают функцию сердца и легких, нормализуют состав липидов крови (снижают концентрацию холестерола и повышают ЛПВП), препятствуют внутрисосудистому свертыванию крови, улучшают самочувствие и, как считают многие, предотвращают или отодвигают срок возникновения таких проявлений атеросклероза, как инфаркт миокарда. Если признать полезность физических нагрузок для здоровых людей, то тем более не следует отрицать их благотворное влияние на больных диабетом, которые особенно подвержены атеросклеротическим заболеваниям.

Скелетные мышцы чувствительны к инсулину; их клетки имеют рецепторы этого гормона, и поэтому на данной ткани легко наблюдать стимулирующие эффекты инсулина на поглощение и окисление глюкозы, синтез гликогена, а также торможение инсулином липолиза. Инсулин необходим для поглощения

глюкозы покоящейся мышцей. Вопреки распространенной ранее точке зрения оказалось, что для поглощения глюкозы работающей мышцей также необходимы небольшие концентрации инсулина (см. Berger, Hagg, Ruderman). Однако ведущие малоактивный образ жизни больные диабетом при повышении физической активности (что происходит, например, когда больные дети попадают в летние лагеря), как правило, нуждаются в *меньшем* количестве инсулина, несмотря на *большее* потребление пищи. Этот парадокс нельзя объяснить ничем другим, кроме как предположением, что утилизация глюкозы работающей мышцей требует гораздо *меньше* инсулина, чем необходимо для отложения того же количества углеводов в форме гликогена или триацилглицеролов. Иными словами, если только количество инсулина достаточно для поддержания функции мембраны, то в работающей мышце возрастает инсулинонезависимая утилизация глюкозы.

Физические нагрузки пропорционально своей интенсивности и длительности вызывают секрецию всех физиологических антагонистов инсулина (глюкагона, катехоламинов, кортизола, гормона роста) и тормозят секрецию инсулина. Если бы этого не происходило, то внезапное увеличение скорости утилизации глюкозы крови работающими мышцами могло бы вызвать гипогликемию[1]. Подавление секреции инсулина способствует подготовке печени к гликогенолизу и глюконеогенезу, которые компенсируют возросшую скорость периферической утилизации глюкозы. Более того, преобладание гормонов-антагонистов над инсулином облегчает мобилизацию СЖК из жировой ткани, равно как и гидролиз триацилглицеролов в мышечных клетках. Таким образом, адаптация к физической работе напоминает адаптацию к голоданию, но в первом случае эти адаптивные реакции возникают с очевидным опережением событий.

Варен, Фелиг и Хагенфельдт (Wahren, Felig, Hagenfeldt) изучали влияние физической нагрузки на гомеостаз энергетических субстратов у здоровых и больных диабетом людей. Было показано, что получающие инсулин больные диабетом без кетонемии и лишь с легкой гипергликемией реагируют на нагрузку совершенно так же, как здоровые лица. Однако у больных с кетонемией и выраженной гипергликемией физическая нагрузка ухудшает состояние: концентрация глюкозы и кетоновых тел в крови возрастает. Аналогичные результаты были получены Бергером, Берчтольдом и др. (Berger, Berchtold et al.).

[1] Гипогликемия в таких условиях должна была бы определяться в первую очередь торможением продукции глюкозы печенью, которая гораздо чувствительнее к инсулину, чем мышцы. — *Прим. перев.*

У больных с плохо компенсированным диабетом наблюдается также усиленная и более длительная секреция глюкагона и гормона роста в крови в ответ на стандартную физическую нагрузку. Поэтому эффект инсулиновой недостаточности усиливается влиянием гормонов-антагонистов. Возможная роль гормона роста в патогенезе атеросклероза (а также осложнений со стороны глаз) позволяет думать, что возрастание его уровня при физических нагрузках у больных диабетом служит фактором, способствующим развитию макро- и микрососудистых осложнений диабета.

Все изложенное свидетельствует о том, что целесообразность физических нагрузок в качестве дополнительного средства компенсации заболевания у лиц с инсулинозависимым диабетом (типа I) в лучшем случае остается неясной. Однако среди больных, способных взять на себя основную ответственность за свое лечение, можно с успехом проводить программы физических нагрузок под наблюдением терапевта и инструктора. Важнейшей гарантией успеха таких программ служат обеспечение больных приборами для определения сахара в крови и подбор физических нагрузок (Kemmer, Berger). Благоприятное влияние физических нагрузок на чувствительность к инсулину, содержание жира в организме, артериальное давление, уровень ЛПНП и ЛПВП у тучных больных с диабетом II типа хорошо документировано (ссылки на многие обзоры по данному вопросу см. Bjorntorp, Krotkiewski; Vranic et al.).

Гипогликемии

Гипогликемия, или низкая концентрация глюкозы в крови, регистрируется в следующих случаях: 1) когда глюкоза элиминируется из крови с большей скоростью, чем всасывается в кишечнике или секретируется печенью, 2) когда гликогенолиз и(или) глюконеогенез в печени не могут компенсировать скорость элиминации глюкозы и 3) когда имеет место сочетание вышеперечисленных факторов. Низкая концентрация глюкозы в крови может сопровождаться потливостью, слабостью, чувством голода, тахикардией, возбуждением и — реже — сонливостью, потерей сознания и судорогами. Симптомы гипогликемии при быстром падении концентрации глюкозы в крови обусловлены гиперадреналинемией и повышением активности симпатической нервной системы. При более медленном снижении концентрации глюкозы в крови на первый план выступают мозговые симптомы: головная боль, затуманенность зрения, диплопия, спутанность сознания, бессвязная речь, кома и судороги. Гипогликемия свидетельствует о нарушении гомеостатической регуляции концентрации глюкозы в крови; перечисленные симптомы — лишь повод для поиска причины нарушения.

Таблица 14-4. Причины гипогликемии

- Избыток инсулина
  - Опухоль из островковых клеток, доброкачественная или злокачественная
  - Другие инсулин-продуцирующие опухоли
  - Избыточная стимуляция секреции инсулина
    - Постгастроэктомический синдром
    - Начальные стадии диабета взрослых
    - Гиперчувствительность к лейцину у детей
    - Новорожденные от больных диабетом матерей
    - Лекарственная (искусственная) гипогликемия
      - Инсулин
      - Препараты сульфонилмочевины
- Недостаточность антагонистов инсулина
  - Гипопитуитаризм (недостаточность ГР и АКТГ)
  - Гипофункция коры надпочечников (недостаточность кортизола)
- Недостаточность секреции глюкозы печенью
  - Диффузное поражение печени (например, цирроз)
  - Этиловый спирт и плохое питание
- Врожденные дефекты метаболизма в печени
  - Гликогенозы
    - Тип I, недостаточность глюкозо-6-фосфатазы
    - Тип III, недостаточность амило-1,6-глюкозидазы
    - Тип VI, недостаточность фосфорилазы
  - Наследственное нарушение толерантности к фруктозе
    - Недостаточность альдолазы фруктозо-1-фосфата
  - Галактоземия (недостаточность галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы)
  - Агликогеноз (недостаточность гликогенсинтетазы и т. п.)
- Неустановленная этиология
  - «Функциональная» гипогликемия
  - Транзиторная гипогликемия у новорожденных с низкой массой тела

Существует много способов классификации гипогликемии, например ее подразделение на «органическую» и «функциональную» в зависимости от того, можно ли выявить ее анатомическую причину, а также от того, развивается ли она натощак или после приема пищи.

В табл. 14-4 перечислены причины гипогликемии с учетом рассмотренных данных о регуляции уровня глюкозы в крови.

Установление этих причин часто основывается на анамнезе, т. е. на выяснении того, возникают ли соответствующие приступы в определенное время после еды (раньше или позже) или они связаны с голоданием (см. Shen, Bressler). Для диагностики гипопитуитаризма и недостаточности надпочечников используют данные анамнеза, физикального обследования и лабораторных анализов. При наличии инсулиномы концентрация инсулина в крови почти всегда неадекватно высока для данного уровня гликемии (еще один пример важности одновременной регистрации содержания гормона и состояния регулируемой им функции).

Описание способов лечения больных с гипогликемией выходит за рамки этой книги, однако необходимо отметить, что успех лечения зависит от выяснения истинной причины этого состояния у каждого отдельного больного.

Избыток и недостаточность антагонистов инсулина

Темой всей этой главы была регуляция обмена веществ инсулином и его антагонистами: гормоном роста, катехоламинами, кортизолом, глюкагоном и соматостатином. Основное внимание уделялось тем нарушениям, которые связаны с дефицитом или избытком инсулина. Однако даже в тех случаях, когда причиной нарушения служит недостаточность инсулина, характерной чертой сбоя регуляции является относительный избыток гормонов-антагонистов (гормона роста, глюкагона). Существуют ли ситуации, при которых регуляция обмена веществ нарушается вследствие первичного избытка или недостатка одного или нескольких физиологических антагонистов инсулина?

Избыток *гормона роста* (акромегалия, гл. 5) часто сопровождается гипергликемией и глюкозурией, которые исчезают, когда содержание этого гормона нормализуется. Аналогичным образом *плацентарный лактоген человека* играет, по-видимому, основную роль в нарушении толерантности к глюкозе и появлении признаков диабета у некоторых беременных женщин. С другой стороны, *гипопитуитаризм* характеризуется гипогликемией через некоторое время после приема глюкозы из-за невозможности компенсировать падение уровня глюкозы в крови.

Избыток *катехоламинов* (например, феохромоцитома, гл. 13) может вызывать гипергликемию и глюкозурию отчасти вследствие эффекта самих катехоламинов, а отчасти из-за того, что они стимулируют секрецию глюкагона и тормозят секрецию инсулина. Трудно найти пример природной недостаточности катехоламинов, но фармакологическая блокада их эффектов применяется весьма широко.

Диабетогенное действие *кортизола* обсуждалось в гл. 11. Это яркий пример того, как ингибирование утилизации глюкозы периферическими тканями и гиперпродукция глюкозы печенью вызывает компенсаторную гиперинсулинемию, которая у восприимчивых лиц может привести к истощению β-клеток. Недостаточность кортизола при аддисоновой болезни или врожденных дефектах синтеза этого гормона может, как и гипопитуитаризм, обусловливать реактивную гипогликемию.

Первичные нарушения секреции *глюкагона* встречаются редко, но описаны случаи гиперглюкагонемии у больных с глюкагонпродуцирующими опухолями (Recant et al.). Наблюдался также один случай избирательной недостаточности глюкагона (Vidnes, Oyasaeter).

Хотя *соматостатин* обнаружен лишь недавно, уже описаны случаи его гиперсекреции у больных с соматостатин-продуцирующими опухолями (Ganda et al.). Вероятно, недостаточность соматостатина может приводить к нарушению функции островкового аппарата, поскольку у мышей с наследственным синдромом ожирения и диабета в островках практически отсутствуют клетки, секретирующие соматостатин (Patel et al.). У таких животных наблюдается гиперинсулинемия и избыточная секреция инсулина в ответ на соответствующий стимул.

Короче говоря, если что-нибудь может нарушиться, оно нарушается. Более того, как только зоркий наблюдатель выяснит существование ранее неизвестного состояния, его «частота» обычно сразу же возрастает.

Химические агенты и функция островковых клеток

Бета-цитотоксические агенты

Аллоксан

Некоторые химические вещества, такие, как *аллоксан*, мочевая кислота, диалуровая кислота и другие, «разыскивают» β-клетки панкреатических островков и разрушают их, как если бы эти молекулы были снабжены какой-то системой наведения, направляющей их к уязвимым объектам. На самом деле аллоксан оказывает не столь уж избирательный эффект, как кажется, поскольку при его введении быстро развивается поражение других тканей, например печени и почек. Однако действие аллоксана в этих тканях обычно транзиторно, тогда как химическое воздействие на β-клетки оказывается для них смертельным.

При введении аллоксана подготовленному соответствующим образом животному возникает определенная последовательность реакций: 1) гипергликемия, которую считают следствием гиперадреналинемии, а также (возможно) прямого действия аллоксана на печень; 2) гипогликемия, отражающая, вероятно, быстрый выброс запасов инсулина из поврежденных β-клеток в кровь, и 3) хроническая гипергликемия, развивающаяся, по-видимому, из-за необратимого повреждения β-клеток.

Польза аллоксана для экспериментальных исследований очевидна. Действительно, аллоксановый диабет воспроизводили у бесчисленного количества животных разных видов для изучения многих аспектов этого заболевания и недостаточности инсулина. Однако такой диабет, по-видимому, не является физиологической моделью диабета, обусловленного удалением поджелудочной железы: было показано, что потребность получавших ал-

локсан животных в инсулине снижается после панкреатэктомии Такой результат можно объяснить либо удалением какого-то вещества, повышающего концентрацию глюкозы в крови, содержащегося в пораженной аллоксаном поджелудочной железе (например, глюкагона), либо спонтанным уменьшением потребления пищи после операции.

Поскольку аллоксан по химической структуре сходен с мочевой кислотой — природным метаболитом, — предполагается, что в самом организме могут образовываться диабетогенные вещества, имеющие определенное значение в возникновении диабета у человека. Однако убедительные доказательства этой точки зрения отсутствуют. Интересно отметить, что глутатион, цистеин, британский антилюизит (дитиол) и другие SH-содержащие соединения защищают β-клетки от повреждающего действия аллоксана. Это свидетельствует о том, что аллоксан оказывает токсический эффект, соединяясь с SH-группами жизненно важных для β-клетки белков, и что SH-ферменты могут играть центральную роль в высокоспециализированной функции β-клеток, синтезирующих и секретирующих инсулин.

Стрептозотоцин

В 1963 г. Ракитен и др (Rakieten et al.) обнаружили, что антибиотик стрептозотоцин, обладающий определенным ростингибирующим действием на некоторые экспериментальные опухоли, при введении собакам и крысам вызывает диабет. Уже в пределах одного часа после внутривенного введения стрептозотоцина можно наблюдать гистологические признаки повреждения β-клеток, а через семь часов видна избирательная некротическая деструкция этих клеток. Ранние повреждения β-клеток сопровождаются выбросом инсулина в кровь. Хотя эти эффекты сходны с действием аллоксана, стрептозотоцин гораздо менее токсичен по отношению к другим тканям. Это особенно справедливо для почек. Поэтому при использовании стрептозотоцина диапазон между эффективной и общетоксической дозой более широк, чем при использовании аллоксана, и стрептозотоциновый диабет оказывается более «чистым», чем аллоксановый.

Пероральные гипогликемические препараты

Вскоре после начала применения сульфонамидов в медицине (около 1935 г.) появились сообщения о том, что у некоторых больных брюшным тифом после приема того или иного из этих веществ развивается гипогликемия. В 1955 г. было показано, что сульфонамиды при пероральном введении могут играть роль «заменителей инсулина» в случаях диабета (Loubatières). Эти

$$H_3C-C_6H_4-SO_2-NH-CO-NH-(CH_2)_3-CH_3$$

Толбутамид

Рис. 14-25. Толбутамид — прототип пероральных средств на основе сульфонилмочевины, снижающих концентрацию глюкозы в крови.

данные вызвали огромный поток исследований как экспериментальных, так и клинических. Первое вещество, проходившее клиническое испытание в ФРГ в 1955 г., получило название *карбутамид*; оно все еще широко применяется в Европе, а в США заменено близким соединением — *толбутамидом* (рис. 14-25).

В лечении диабета взрослых находят широкое применение шесть пероральных сахароснижающих препаратов

Вещество	*Продолжительность действия, ч*
Толбутамид (ориназ)	6—10
Хлорпропамид (диабенез)	36—60
Ацетогексамид (димелор)	10—20
Толазамид (толиназ)	12—24
Глипизид	10—16
Глибурид	12—24

Первые четыре называются препаратами первого поколения; последние два, разрешенные к применению в США только в 1984 г., известны как препараты второго поколения. От первых они отличаются в основном своей активностью. В организме все эти вещества превращаются и экскретируются по-разному, что и определяет различную продолжительность их действия. Хлорпропамид наиболее устойчив к метаболической деградации и, кроме того, реабсорбируется в почечных канальцах. Именно поэтому он и обладает наибольшей продолжительностью действия. Все сульфонамидные сахароснижающие вещества содержат структуру $SO_2 \cdot NH \cdot CO \cdot NH$, которая и обусловливает большинство эффектов, например сенсибилизацию β-клеток к обычным стимулам (в результате чего возрастает секреция инсулина). Именно по этой причине указанные вещества неэффективны у склонных к кетозу больных с инсулинодефицитным диабетом.

Почти с самого начала изучения препаратов сульфонилмочевины предполагалось, что они не только стимулируют секреторную активность β-клеток, но и обладают периферическими эффектами. Недавно описано пониженное связывание инсулина моноцитами крови у больных диабетом (см. Olefsky, Reaven), а многие другие исследования (Kahn, Roth et al.) показали, что связывание инсулина моноцитами отражает его связывание с

мембранами адипоцитов и гепатоцитов. При лечении этих больных хлорпропамидом связывание инсулина возрастало. В некоторых клетках-мишенях препараты сульфонилмочевины усиливают реакцию на инсулин и на пострецепторных этапах. Таким образом, эти вещества не только улучшают секрецию инсулина, но могут влиять и на чувствительность периферических клеток-мишеней к гормону.

Интерес к веществам этого класса выходит за пределы диабетологии. После того, как был обнаружен АДГ-подобный эффект хлорпропамида (но не других препаратов сульфонилмочевины) при несахарном диабете, было показано, что он усиливает или ослабляет биологическое действие и ряда других гормонов. Например, он потенцирует влияние АДГ на задержку свободной воды в мозговом веществе почек (см. Miller, Moses), препятствует действию паратгормона на канальцы коркового вещества почек (см. Coulson, Moses) и предотвращает стимулирующее действие глюкагона на изолированную перфузируемую печень (см. Blumenthal). Сообщалось также, что он усиливает положительный инотропный эффект адреналина на сердце.

Все эти гормональные эффекты обладают одной общей особенностью; они опосредуются через цАМФ и цАМФ-зависимую протеинкиназу. Почему одни эффекты усиливаются, а другие ослабляются — точно не известно, но одно из объяснений могло бы заключаться в том, что хлорпропамид ингибирует и аденилатциклазу, *и* фосфодиэстеразу. Потенцирование или торможение гормонального эффекта в таких условиях должно было бы зависеть от того, какой из этих двух ферментов ингибируется в большей степени (Leichter, Chase).

Пероральные сахароснижающие препараты широко используются в течение многих лет, но в некоторых случаях к ним относятся без должной осторожности. (Многие больные, получающие эти средства, страдают ожирением, и диабет у них мог бы быть компенсирован простым уменьшением массы тела.) В 1970 г. был опубликован доклад межклинической исследовательской группы (University Diabetes Group Program, или UDGP), содержащий данные о том, что смертность от сердечно-сосудистых заболеваний среди больных, получавших толбутамид (см. рис. 14-25), статистически достоверно превышает таковую среди лиц, получавших плацебо, а также постоянные или меняющиеся дозы инсулина. Результаты, опубликованные UDGP, подвергались тщательной перепроверке как сторонниками, так и противниками этих выводов. Хотя противоречия, по-видимому, остаются, доклад UDGP требует от врачей большей осторожности при отборе больных для назначения препаратов сульфонилмочевины и большей тщательности при оценке их состояния в процессе лечения.

Литература[1]

Abumrad N. A., Perry P. R., Whitesell R. R. (1985). Stimulation by epinephrine of the membrane transport of long chain fatty acid in the adipocyte, J. Biol. Chem., **260**, 9969.

Albisser W. D., Leibel B. S., Zinman B. et al. (1977). Studies with an artificial endocrine pancreas, Arch. Intern. Med., **137**, 639.

Bell G. I., Pictet R. L., Rutter W. J. et al. (1980). Sequence of human insulin gene, Nature, 284, 26.

Bergeron J. J. M., Cruz J., Khan M. N. et al. (1985). Uptake of insulin and other ligands into receptor-rich endocytotic components of target cells, The endosomal apparatus, Ann. Rev. Physiol., 47, 383.

Bjorntorp P., Krotkiewski M. (1985). Exercise treatment in diabetes mellitus, Acta. Med. Scand., 217, 3.

Blumenthal S. A. (1977). Potentiation of the hepatic action of insulin by chlorpropamide, Diabetes, **26**, 485.

Boyd M. E., Albright E. B., Foster D. W. et al. (1981). In vitro reversal of the fasting state of liver metabolism in the rat. Reevaluation of the roles of insulin and glucose, J. Clin. Invest., **68**, 142.

Bressler R., Galloway J. A. (1971). The insulins, Ration Drug. Ther., **5**, May.

Brownlee M. (1984). Microvascular disease and related abnormalities: Their relation to the control of diabetes. In: Marble A., et al. (eds.). Joslin's Diabetes Mellitus, ed. 12, pp. 185—216.

Brownlee M., Vlassara H., Cerami A. (1984). Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications, Ann. Intern. Med., **101**, 527.

Burkhard S. J., Traugh J. A. (1983). Changes in ribosome function by cAMP-dependent and cAMP-independent phosphorylation of ribosomal protein S6, J. Biol. Chem., 258, 14003.

Campbell I. L., Hellqiust L. N. B., Taylor K. W. (1982). Insulin biosynthesis and its regulation, Clin. Sci., **62, 449.**

Cerasi E. (1985). A la recherche du temps perdu-epilogue to the Minkowski Award lecture, 1974, Diabetologia, **28**, 547.

Cheng K., Larner J. (1985). Intracellular mediators of insulin action, Ann. Rev. Physiol., **47, 405.**

Chick W. L., Like A. A., Lauris V. (1975). Beta cell culture on synthetic capillaries: An artificial endocrine pancreas, Science, **187, 847.**

Clements R. S. Jr., Reynertson R. (1977). Myoinositol metabolism in diabetes mellitus: Effect of insulin treatment, Diabetes, **26**, 215.

Cohen P. (1982). The role of protein phosphorylation in neural and hormonal control of cellular activity, Nature, **296**, 613.

Colwell J. A., Sagel J., Crook L. et al. (1977). Correlation of platelet aggregation, plasma factor activity, and megathrombocytes in diabetic subjects with and without diabetic vascular disease, Metabolism, **26**, 279.

Coulson R., Moses A. M. (1975). Effect of chlorpropamide on renal response to parathyroid hormones in normal subjects and in patients with hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism, J. Pharmacol. Exp. Ther., **194**, 603.

Craighead J. E. (1975). The role of viruses in the pathogenesis of pancreatic disease and diabetes mellitus, Prog. Med. Virol., **19**, 161.

Creutzfeldt W., Ebert R. (1985). New developments in the incretin concept, Diabetologia, **28**, 565.

Cryer P. E., Gerich J. E. (1985). Glucose counterregulation, hypoglycemia, and intensive insulin therapy in diabetes mellitus, N. Engl. J. Med., **313**, 232.

Cushman S. W., Wardzala L. J. (1980). Potential mechanism of insulin action on glucose transport in the isolated rat adipose cell: Apparent translocation of

[1] См. примечание на с. 40.

the intracellular transport system to the plasma membrane, J. Biol. Chem., **255**, 4758.
Czech M. P. (1985). The nature and regulation of the insulin receptor: Structure and function, Ann. Rev. Physiol., 47, 357.
Czech M. P. (ed.) (1985). Molecular Basis of Insulin Action, New York, Plenum Publishing Corp.
Ditzel J., Standl E. (1975). The oxygen transport system of red blood cells during diabetic ketoacidosis and recovery, Diabetologia, **11**, 255.
Docherty K., Carroll R. J., Steiner D. F. (1982). Conversion in proinsulin to insulin: Involvement of a 31,500 molecular weight thiol protease, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **79**, 4613.
Duncan B. B., Heiss G. (1984). Nonenzymatic glycosylation of proteins — a new tool assessment of cumulative hyperglycemia in epidermiologic studies, past and future, Am. J. Epidemiol., **120**, 169.
Ebina Y., Ellis L., Jarnagin K. et al. (1985). The human insulin receptor cDNA: The structural basis for hormone-activated transmembrane signalling, Cell, **40** ,747.
Efendić S., Luft R., Wajngot A. (1984). Aspects of the pathogenesis of Type 2 diabetes, Endocrine Rev., **5**, 395.
Ellenberg M., Rifkin H. (1983). Diabetes Mellitus: Theory and Practice, ed. 3. New Hyde Park, New York, Medical Examination Publishing Co.
El-Maghrabi M. R., Claus T. H., Pilkis J. et al. (1982). Regulation of rat liver fructose 2,6- bisphosphatase, J. Biol. Chem., **257**, 7603.
Fain J. N. (1984). Insulin secretion and action, Metabolism, 33, 672.
Felig P., Saudek C. D. (1976). The metabolic events in starvation, Am. J. Med, 60, 117.
Foster D. W. (1984). From glycogen to ketones — and back (Banting Lecture), Diabetes, **33**, **1188**.
Fujita T. (ed.) (1976). Endocrine Gut and Pancreas, New York, Elsevier, North-Holland, Inc.
Gabbay K. H., DeLuca K., Fisher J. N. et al. (1976). Familian hypoinsulinemia — and autosomal defect, N. Engl. J. Med., **294**, 911.
Gammeltoft S. (1984). Insulin receptors: Binding kinetics andd structure-function relationships of insulin, Physiol. Rev., **64**, 1321.
Ganda O. P., Weir G. C., Soeldner J. C. et al. (1977). Somatostatinoma: A somatostatin-containing tumor of endocrine pancreas, N. Engl. J. Med, **296**, 963.
Gerich J. E., Charles M. A., Grodsky G. (1976). Regulation of pancreatic insulin and glucagon secretion, Ann. Rev. Physiol., **38**, **353**.
Goeddel D. V., Kleid D. G., Bolivar F. et al. (1979). Expression in *E. coli* of chemically synthesized genes for human insulin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76, 106
Goldberg A. L., Griffin G. E., Dice J. F., Jr. (1976). Regulation of protein turnover in normal and dystrophic muscle. In: Pathogenesis of Human Muscular Dystrophy, Amsterdam, Excerpta Medica.
Goodkin G. (1975). Mortality factors of diabetes: A 20-year mortality study, J Occup. Med., **17**, 176.
Gottschalk W. K., Jarett L. (1985). Intracellular mediators of insulin action. In: DeFronzo (ed.). Diabetes Metabolism Reviews, New York, John Willy and Sons, pp 228—259.
Greene D. A., DeJesus P. V., Jr., Winegrad A. I. (1975). Effects of insulin and dietary inositol on impaired peripheral motor nerve conduction velocity in acute streptozotocin diabetes, J. Clin Invest., **55**, 1326.
Griffey M. A., Conaway H. H., Harshfield D. L. et al. (1977). Effect of somatostatin on insulin secretion induced by ionophore, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **154**, 198
Halushka P. V., Lurie D, Colwell J. A. (1977). Increased synthesis of prostaglandin E-like material by platelets from patients with diabetes mellitus, N. Eng. J. Med., **297**, 1306.

Haneda M., Polonsky K. S. et al. (1984). Familial hyperinsulinemia due to a structurally abnormal insulin: Definition of an emerging new clinical syndrome, N. Engl. J. Med., **310**, 1288.
Hansson A., Ingelman-Sundberg M. (1985). Insulin stimulated protein synthesis in adipocytes (initiation and ribosomal protein S6), Eur. J. Biochem., **151**, 97.
Harper M. E., Utlrich A., Saunders G. F. (1981). Localization of the human insulin gene to the distal end oh the short arm of chromosome 11, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78, 4458.
Hedeskov C. J. (1980). Mechanism of glucose-induced insulin secretion, Physiol. Rev., **60**, 442.
Hers H.-G. (1984). The discovery and biological role of fructose 2,6 biphosphate (10th Jubilee Lecture), Biochem. Soc. Trans., **12**, 729.
Hodgkin D. C., Dodson E., Dodson G. et al. (1984). Insulin: Threedimensional structure, Biochem. Soc. Trans., **11**, 411.
Howell S. L. (1984). The mechanism of insulin secretion, Diabetologia, **26**, 319.
Johnson I. S. (1983). Human insulin from recombinant DNA technology, Science, **219**, 632.
Kahn C. R., Flier J. S., Bar R. S. et al. (1976). The syndromes of insulin resistance and acanthosis nigricans: Insulin receptor disorders in man, N. Engl. J. Med., **294**, 739.
Kasuga M., Zizk Y., Blithe D. L. et al. (1982). Insuin stimulation of phosphorylation of the β subunit of the insulin receptor, J. Biol. Chem., **257**, 9891.
Kemmer F. W., Berger M. (1984). Exercise in therapy and the life of diabetic patients, Clin. Sci., **67**, 279.
King G. L., Kahn C. R., Samuels B. (1982). Synthesis and characterization of molecular hybrids in insulin and insulin-like growth factor, J. Biol. Chem., **257**, 10869.
Kohen E., Kohen C., Tkorell B. et al. (1979). Intercellular communication in pancreatic islet monolayer cultures: A microfluorometric study, Science, **204**, 863.
Kono T., Robinson F. W., Sarver J. A. (1975). Insulin-sensitive phosphodiesterase: Its localization, hormonal stimulation, and oxidative stabilization, J. Biol. Chem., **250**, 7826.
Lacy P. E., Davie J. M., Finke E. H. (1979). Prolongation of islet allograft survival following in vitro culture (24 °C) and a single infection of ALS, Science, **204**, 312.
Larner J. (1985). Insulin and oral hypoglycemic drugs: Glucagon, in Gilman A. G., Goodman L. S., Rall T. W. et al. (eds.). Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics, ed. 7. New York, Macmillan Publishing Co. pp. 1504—1507.
Ledet T. (1976). Growth hormone stimulating the growth of arterial medial cells in vitro: Absence of effect of insulin, Diabetes, **25**, 1011.
Lefebvre P. J. (1983). Glucagon, Vols 1 and 2, Handbook of Experimental Pharmacolohy, Vols 66/1 and 66/2, New York, Springer-Verlag.
Leichter S. B., Chase L. R. (1976). Differential effects of chlorpropamide on adenylate cyclase and phosphodiesterase activity in renal cortex and medulla, Endocrinology, 98, (Suppl. 1), 71.
Lenmark A., Freedman Z. R., Hofman A. H. et al. (1978). Islet-cell-surface antibodies in juvenile diabetes mellitus, N. Engl. J Med., **299**, 375.
Livingston J. N., Einarsson K., Backman L. et al. (1985). Glucagon receptor of human liver, J. Clin. Invest., **75**, 397.
Lopes-Virella M. F. L., Stone P. G., Colwell J. A. (1977). Serum highdensity lipoprotein in diabetic patients, Diabetologia, **13**, 285.
Malaisse W. J. (ed.) (1984). Stimulus-secretion coupling in the pancreatic B cell (15 review articles), Experientia, **40**, 10—1164.
Mallison C. N., Bloom S. R., Warin A. P. et al. (1974). A glucagonoma syndrome, Lancet, **2**, 1.

Mandrup-Poulsen T., Owerbach D., Nerup J. et al. (1985). Insulin gene flanking sequences, diabetes mellitus, and antherosclerosis: A review, Diabetologia, **28**, 556.
Marble A., Krall L. P., Bradley R. F. et al. (eds.). (1985). Joslin's Diabetes Mellitus, ed. 12, Philadelphia, Lea & Febiger.
Miller M., Moses A. M. (1970). Mechanism of chlorpropamide action in diabetes insipidus, J. Clin. Endocrinol. Metab., **30**, 488.
Molnar G. D., Taylor W. F., Ho M. M. (1972). Day-to-day variation of continuously monitored glycemia, Diabetologia, **8**, 342.
Moore R. D. (1985). The case for intracellular pH in insulin action. In: Czech M. P. (ed.). Molecular Basis of Insulin Action, New York, Plenum Publishing Corp., p. 145.
Morgan H. E., Jefferson L. S., Wolpert E. B. et al. (1971). Regulation of protein synthesis in heart muscle, II: Effect of amino acid levels and insulin on ribosomal aggregation, J. Biol. Chem., **246**, 2163.
Morgan N. G., Rumford G. M., Montague W. (1985). Studies on the role of inositol triphosphate in the regulation of insulin secretion from isolated rat islets of Langerhans, Biochem. J., **228**, 713.
Olefsky J. M., Reaven G. M. (1976). Effects of sulfonylurea therapy on insulin binding to mononuclear leukocytes of diabetic patients, Am. J. Med., **60**, 89.
Orci L. (1985). The insulin factory: A tour of the plant surroundings and a visit to the assembly line, Diabetologia, **28**, 528.
Orci L., Ravazzola M., Amherdt M. et al. (1985). Direct identification of prohormone conversion site in insulin-secreting cells, Cell, **42**, 671.
Raskin P. (1978). Diabetic regulation and its relation to microangiopathy, Metabolism, **27**, 235.
Robbins D. C., Tager H. S., Rubenstein A. H. (1984). Biologic and clinical importance of proinsulin, N. Engl. J. Med., **310**, 1165.
Rodger N. W. (ed.) (1985). Proceedings of a conference on insulin pump therapy in diabetes, Diabetes, **34** (Suppl. 3), 1—91.
Rossini A. A., Like A., Chick W. L. et al. (1977). Studies of streptozotocin-induced insulinitis and diabetes, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **74**, 2485.
Roth J., Le Roith D., Shiloach J. et al. (1982). The evolutionary origins of hormones, neurotransmitters and other extracellular chemical messengers, N. Engl. J. Med., **306**, 523.
Roth J., Grunfeld C. (1985). Mechanism of action of peptide hormones and catecholamines. Chapter 4. In: Milson J. D., Foster D. W. (eds). Williams Textbook of Endocrinology, ed. 7. Philadelphia, W. B. Saunders Co, pp. 76—122.
Sasaki K., Cripe T. P., Kock S. R. et al. (1984). Multihormonal regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase gene transcription: The dominant role of insulin, J. Biol. Chem., **259**, 15242.
Soeldner J. S., Chang K. W., Aisenberg S. et al. (1973). Progress toward an implantable glucose sensor and an artifical beta cell. In: Urquhart J., Yates F. E. (eds.). Temporal Aspects of Therapeutics, New York, Plenum Publishing Corp.
Spiro R. G. (1976). Search for a biochemical basis of diabetic microangiopathy (Claude Bernard Lecture), Diabetologia, **12**, 1.
Steiner D. F. (1977). Insulin today (Banting Lecture), Diabetes, **26**, 322.
Straus D. S. (1984). Growth-stimulating actions of insulin in vitro and in vivo, Endocrine Rev., **5**, 356.
Sutherland D. E. R. (1981). Pancreas and islet transplantation I: Experimental studies, Diabetologia, **20**, 161.
Sutherland D. E. R. (1984). Pancreas and islet transplant registry data, World J. Surg., **8**, 270.
Suzuki K., Kono T. (1980). Evidence that insulin causes translocation of glucose transport activity to the plasma membrane from an intracellular storage site, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **77**, 2542.

Thim L., Moody A. J. (1981). The primary structure of porcine glicentin (proglucagon), Regul. Pept., 2, 139.
Ullrich A., Bell J. R., Chen E. Y. et al. (1985). Human insulin receptor and its relation to the tyrosine kinase family of oncogenes, Nature, 313, 756.
Unger R. H. (1983). Insulin: glucagon relationships in the defense against hypoglycemia (Berson Memorial Lecture), Diabetes, **32**, 575.
Unger R. H., Eisentraut A. M. (1969). Entero-insular axis, Arch. Intern. Med., 123, 261.
Unger R. H., Orci L. (eds.) (1981) Glucagon: Physiology, Pathophysiology, and Morphology of the Pancreatic A Cell, New York, Elsevier, North-Holland, Inc.
Vidnes J., Oyasaeter C. (1977). Glucagon deficiency causing severe neonatal hypoglycemia in a patient with normal insulin secretion, Pediatr. Res., **11**, 943.
Volk B. W., Arquilla E. R. (eds.) (1985). The Diabetic Pancreas, ed. 2, New York, Plenum Publishing Corp.
Vranic M., Horvath S., Wahren J. (eds.) (1979). Proceedings of a conference on diabetes mellitus and exercise, Diabetes, 28 (Suppl. 1).
Ward J. D., Barnes C. G., Fisher D. L. et al. (1971). Improvement in nerve conduction following treatment in newly diagnosed diabetics, Lancet, **1**, 428.
Winegrad A. I., Greene D. A. (1976). Diabetic polyneuropathy: The importance of insulin deficiency, hyperglycemia, and alterations in myoinositol metabolism in its pathogenesis. N. Engl. J. Med., **295**, 1416.
Zawalich W., Zawalich K., Rasmussen H. (1984). Insulin secretion: Combined tolbutamide, forskolin, and TPA mimic action of glucose, Cell Calcium, **5**, 551.
Zhang Y.-S. (1983). Studies on insulin structure and function, Biochem. Soc. Trans., **11**, 417.

Глава 15

Транспорт и метаболизм триацилглицеролов и холестерола: образование, взаимодействия и отложение липопротеинов

Некоторые хронологические вехи в изучении атерогенеза, холестерола и транспорта липидов[1)]

Дата		*Исследователи*
ок. 1500 г. до н. э.	Атеросклероз в Древнем Египте	Древние папирусы
ок. 1500	Постулировано, что у стариков... сосуды «ограничивают прохождение крови»	Леонардо да Винчи
1768	Отмечено, что при грудной жабе: «сыворотка жирная, как сливки»	Геберден (Heberden)
1778	«Сердце перегружено жиром, сосуды прячутся в этом веществе»	Дженнер (Jenner)

ок. 1785	Интима артерий «изъязвлена и покрыта жиром»	Скарпа (Scarpa)
1833	Предложен термин «атеросклероз»	Лобштейн (Lobstein)
1905	Описана внезапная закупорка коронарных артерий	Геррик (Herrick), Образцов, Стражеско
1908	Воспроизведен атеросклероз у кроликов путем скармливания им молока и яичных желтков	Игнатовский
1912	Показано, что скармливание подсолнечного масла и рыбьего жира *не* вызывает атеросклероза	Стуки (Stuckey)
1913	Показано, что скармливание чистого холестерола вызывает атеросклероз у кроликов	Аничков и Халатов
1930 и далее	Организуются эпидемиологические исследования распространенности гиперхолестеринемии и атеросклеротических заболеваний	Многие
1939	Идентифицирована семейная гиперхолестеринемия как наследственное заболевание	Мюллер (Muller)
1940 и далее	Разработан электрофорез белков плазмы крови	Кон (E. J. Cohn)
1950	Разработан метод разделения липопротеинов с помощью электрофореза и ультрацентрифугирования	Многие
1950-е	Расшифрован путь биосинтеза холестерола	Блох (Bloch), Линен (Lynen)
1960-е	Описана гомозиготная и гетерозиготная гиперхолестеринемия	Качадурьян, Фредриксон (Khachadurian, Fredrickson)
1973	Открыты рецепторы липопротеинов низкой плотности	Браун, Гольдстейн (Brown, Goldstein)

[1] По Gotto A. M., Jr. (1985). Circulation, 72, 8; Brown M. S., Goldstein J. L. (1984). Sci. Am., 251, 58; и др.

Атеросклероз и свойственные ему осложнения со стороны сердца, мозга и почек, очевидно, древнее египетских папирусов, поскольку должны были встречаться в любых обществах, где какая-то часть людей имела неограниченный доступ к пище, особенно животным жирам. Эпидемиологические и экспериментальные данные о связи избыточной концентрации холестерола в крови с увеличенной частотой ишемической болезни сердца и инсультов побудили многих исследователей к изучению транспорта и метаболизма липидов. В результате этих работ накопились обширные сведения об ассимиляции, транспорте и утилизации жировых веществ. В 1958 г. Брауну и Гольдстейну за открытие рецепторов липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и последующие работы была присуждена Нобелевская премия.

Однако эта высокая награда нисколько не умаляет заслуг и других выдающихся ученых, занимавшихся проблемами транспорта и метаболизма липопротеинов (Motulsky, 1986). Вероятно, нельзя считать случайностью тот факт, что основные успехи в изучении взаимодействия липопротеинов с их рецепторами были достигнуты одновременно с бурным расцветом рецептологии пептидных гормонов. Существует много общего в биологии рецепторов липопротеинов и пептидных гормонов, и потому открытия в одной области стимулировали прогресс в изучении другой.

Некоторые функции липидов

Жирные кислоты и *триацилглицеролы* используются организмом главным образом как энергетические вещества. Выше отмечалось, что суммарные запасы углеводов в организме невелики, поэтому существует необходимость в жировых резервах, особенно на случай голода. Запасы триацилглицеролов позволяют человеку обходиться без пищи в течение суток и даже недель. Триацилглицеролы жировых депо служат также изолирующим слоем, предохраняющим организм от потери тепла.

Фосфолипиды — основные компоненты клеточных мембран. Кроме того, они являются предшественниками многих биологически активных веществ, включая простагландины, тромбоксан, простациклин, диацилглицерол, инозитолтрифосфат и т. д. Наконец, фосфолипиды могут модулировать активность мембранных белков, таких, как ферменты и переносчики.

Холестерол — тоже важнейший компонент клеточных мембран. Текучесть мембраны, а следовательно, функции мембранных белков зависят от количественного содержания в ней холестерола. Кроме того, холестерол служит предшественником желчных кислот и, как отмечалось выше, стероидных гормонов надпочечников, яичников, семенников и плаценты. Хотя все клетки обладают способностью синтезировать холестерол de novo из ацетил-КоА, большинство из них (кроме клеток печени и эпителия кишечника) получают это вещество из крови. Одна из важнейших проблем населения развитых промышленных и сельскохозяйственных стран заключается в том, чтобы избавиться от *избытка* пищевого холестерола. Поскольку холестерол выводится из организма в основном печенью, которая использует его для синтеза желчных кислот, поступающих в желчь, освобождение от избыточного количества холестерола так или иначе должно быть связано с его транспортом в печень, где он подвергается метаболизму и экскреции.

Состав, структура и функция липидов

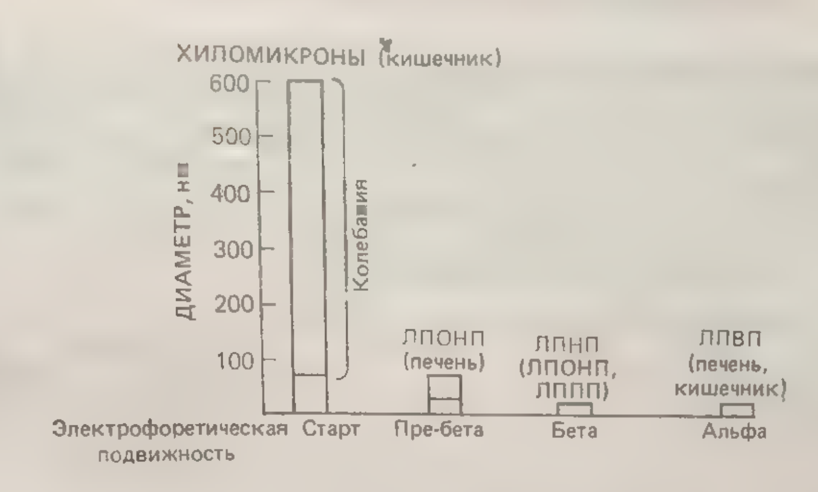
Жиры служат идеальным запасным «топливом»: по сравнению с углеводами и белками они содержат вдвое больше калорий на 1 г массы и связывают меньшее количество воды. Однако они не растворяются в воде, и поэтому в процессе эволюции сформировалась сложная система транспорта и распределения жиров в водной среде организма — крови. Неэтерифицированные (свободные) жирные кислоты (НЭЖК, или СЖК) переносятся кровью в виде комплексов с альбумином; именно в этой форме они и поступают из адипоцитов в печень и другие ткани.

Холестерол, его эфиры, фосфолипиды и триацилглицеролы транспортируются в форме высокоспециализированных микромицеллярных комплексов, называемых *липопротеинами*. Существует много классов липопротеинов, и всех их объединяют следующие особенности: 1) поверхность липопротеинов, или оболочка, состоит из фосфолипидов (гидрофильные части которых обращены наружу), свободного холестерола и небольшого количества белка (см. ниже п. 3); 2) сердцевина липопротеинов состоит из капель (при температуре тела) триацилглицеролов и холестероловых эфиров жирных кислот; 3) каждый липопротеин содержит особый набор поверхностных *апопротеинов* — высокоспециализированных белков, спиральные участки которых изнутри (т. е. в направлении сердцевины) липофильны, а снаружи — гидрофильны. В результате образуется маленькая частица, замечательно приспособленная для транспорта водонерастворимых веществ в водной среде.

Апопротеины играют существенную роль в определении структуры этих частиц, их *взаимодействии с рецепторами* соответствующих клеток, а также в качестве *кофакторов ряда ферментов* метаболизма липопротеинов (см. ниже).

Циркулируя в крови, липопротеиновые комплексы обмениваются между собой как холестеролом, так и отдельными апопротеинами. Поскольку разные клетки обладают рецепторами, распознающими только специфические апопротеины, тканевое назначение («адресат») каждой частицы как бы отпечатывается на ней путем включения определенного апопротеина в ее оболочку.

Циркулирующие в крови липопротеины подразделяются на шесть больших классов в зависимости от размеров, плотности (определяемой с помощью ультрацентрифугирования) и электрофоретической подвижности. В случае хиломикронов и липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) имеются существенные колебания среднего размера и плотности. Меньшие частицы — липопротеины низкой плотности (ЛПНП) и липопро-



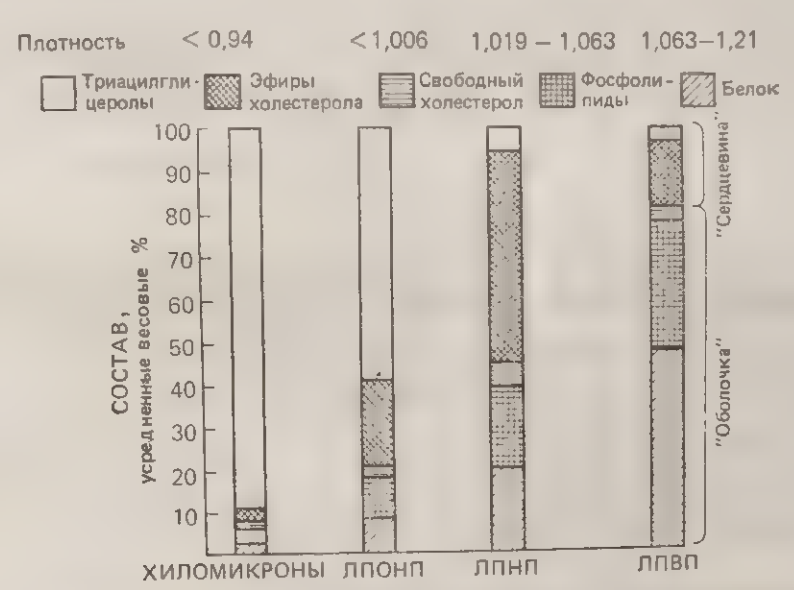


Рис. 15-1. Общие сведения о размерах, источниках и составе основных классов липопротеинов. (Более подробные сведения см. Bierman and Glomset, Brown and Goldstein (1985), а также Schaefer, Levy в списке литературы.)

теины высокой плотности (ЛПВП) — в целом более однообразны по размерам и составу, хотя и здесь отмечены некоторые колебания. Крупные частицы (хиломикроны, ЛПОНП) содержат высокий процент триацилглицеролов и небольшой — белка. ЛПНП служат основными переносчиками холестерола. Соотношение липопротеинов разных классов в крови отличается от того соотношения, в каком они поступают в кровь, поскольку в плазме происходят изменения (прибавление, обмен, потеря) как липидных, так и апопротеиновых компонентов.

На рис. 15-1 в графическом виде суммированы некоторые физические и структурные свойства основных классов липопротеинов, а также особенности их состава. На основании приве-

денных данных можно сделать несколько выводов, а именно: 1) размеры липопротеинов (от хиломикронов до ЛПВП) широко варьируют. Самые крупные частицы обнаруживают и самые большие колебания размеров; 2) вначале ЛПОНП, ЛПНП и ЛПВП произвольно обозначались греческими буквами в зависимости от их электрофоретической подвижности. Липопротеины промежуточной плотности (ЛППП) на рисунке не показаны, поскольку мы не нашли в литературе данных об их составе. Как следует из их названия, по плотности они занимают промежуточное положение между ЛПОНП и ЛПНП, а по электрофоретической подвижности относятся к классу пре-бета; 3) липопротеины с наибольшим содержанием триацилглицеролов в сердцевине (хиломикроны, ЛПОНП) обладают наименьшей плотностью (т. е. имеют наименьшую удельную массу); 4) основными переносчиками холестерола служат ЛПНП; 5) ЛПВП — единственный класс липопротеинов, которые содержат больше компонентов оболочки, чем сердцевины. На рисунке в скобках указаны ткани, в которых липопротеины образуются de novo (т. е. до их модификации в крови за счет контакта с другими частицами).

Ниже мы подробнее остановимся на отдельных классах липопротеинов и их взаимодействиях.

Хиломикроны и их остатки

Богатые триацилглицеролами липопротеины могут поступать в кровь либо из эпителия кишечника (в виде хиломикронов), либо из печени (в виде ЛПОНП). Принятые с пищей триацилглицеролы в просвете кишечника распадаются на СЖК или моноацилглицеролы и в такой форме всасываются эпителиальными клетками кишечника. Короткоцепочечные жирные кислоты (не более 12 атомов углерода) могут непосредственно поступать в печень через воротную вену. Длинноцепочечные жирные кислоты (более 14 атомов углерода) в клетках кишечника реэтерифицируются в триацилглицеролы и включаются в хиломикроны вместе с соответствующими фосфолипидами и белками оболочки. Свободный холестерол после всасывания может либо использоваться клетками кишечника, либо включаться в хиломикроны (в облочоку или, подвергаясь этерификации, — в сердцевину).

Апопротеин В 48 синтезируется только в клетках кишечника. В его отсутствие хиломикроны не образуются. Во время сборки хиломикронов в их поверхностный слой включаются и некоторые подтипы апопротеина А. В итоге в состав белковой оболочки новообразованных хиломикронов, которые секретируются в лимфатические терминали грудного протока, входят только апопротеины подтипа А и В 48.

При выходе хиломикронов из грудного протока в кровь они встречаются с частицами ЛПВП, содержащими апопротеины С и Е. Хиломикроны и ЛПВП обмениваются апопротеинами следующим образом:

$$\text{Хиломикрон} \underset{\text{Некоторые апопротеины А}}{\overset{\text{Апопротеины С и Е}}{\rightleftarrows}} \text{ЛПВП}$$

Этот обмен чрезвычайно важен, поскольку апопротеин СII служит кофактором тканевого фермента *липопротеинлипазы* (ЛПЛ), которая высвобождает триацилглицеролы из хиломикронов и ЛПОНП и гидролизует их до СЖК и глицерола. СЖК поступают в клетки, где либо подвергаются окислению, либо связываются с образованием триацилглицеролов.

Здесь необходимо сделать паузу и коснуться самой ЛПЛ. Этот фермент синтезируется и секретируется адипоцитами, клетками сердечной и скелетных мышц и молочных желез. Секретируемый фермент прикрепляется к плазматической мембране эндотелиальных клеток капилляров, причем это происходит в тех тканях, где он вырабатывается. Регуляция фермента (в данном случае речь идет об изменении общего числа его молекул) в разных тканях различна; в двух разных тканях одно и то же физиологическое воздействие может сказываться на активности ЛПЛ *противоположным* образом. Это положение иллюстрируется следующей схемой, на которой повышение и понижение активности ЛПЛ показано стрелками:

	Голодание (или диабет)	Прием пищи после голодания (или инсулин)	Лактация
Жировая ткань	↓	↑	
Сердечная мышца	↑	↓	
Молочные железы при беременности	—	—	↑↑↑

Активность фермента зависит от соотношения концентраций инсулина и глюкагона (при голодании и последующем приеме пищи, диабете и лечении инсулином), а также от других гормонов (при беременности и лактации). Адаптивные изменения активности ЛПЛ в разных тканях могут сказываться на локальной судьбе богатых триацилглицеролами липопротеинов. При диабете недостаточность синтеза ЛПЛ из-за отсутствия инсулина или инсулинорезистентности служит одной из причин наблюдающейся гиперлипидемии. Гипертриглицеридемия может быть обусловлена и врожденными дефектами ЛПЛ.

Под действием ЛПЛ (в сочетании с апопротеином СII) хиломикрон резко уменьшается в размерах и распадается на мно-

гочисленные компоненты оболочки (включая апопротеин С) и остаточный компонент (содержащий апопротеины Е и В). Компоненты оболочки захватываются частицами ЛПВП, которые могут потом отдавать апопротеины Е и С хиломикронам. В то же время остаточный компонент, если он еще не потерял свой апопротеин Е, ранее полученный от ЛПВП, приобретает именно тот набор апопротеинов (В 48 и Е), который позволяет ему взаимодействовать с рецептором апопротеина Е гепатоцитов. Затем комплекс остаточного компонента с рецептором подвергается эндоцитозу, включается в фаголизосомы и содержимое сердцевины (в основном эфиры холестерола и небольшое количество триацилглицеролов) гидролизуется. Клетка печени может использовать холестерол для поддержания целостности мембраны, синтеза желчных кислот или включать его в новообразуемые ЛПОНП. Какая-то часть свободного холестерола экскретируется в желчь, где его кристаллизации (и образованию камней) препятствует совместное детергентное действие желчных кислот и лецитина, но это уже другая самостоятельная проблема. Холестерол, поступивший с желчью в желудочно-кишечный тракт, может всасываться обратно или использоваться микроорганизмами кишечника и выделяться с калом. Наряду со слущиванием содержащих холестерол эпителиальных клеток кишечника это единственный путь удаления холестерола из организма. Позднее мы еще вернемся к данному вопросу.

Липопротеины очень низкой плотности и липопротеины промежуточной плотности

Синтезируемые в печени ЛПОНП — это основные переносчики триацилглицеролов. В жировой ткани триацилглицеролы запасаются, а в клетках сердечной и скелетных мышц помимо запасания могут окисляться. ЛПОНП выносят в кровь и холестерол, который либо включается в другие липопротеины, либо поступает непосредственно в ткани. В крови ЛПОНП с помощью «обменивающего» гликопротеина получают от ЛПВП эфиры холестерола.

Подобно тому как В48 служит специфическим маркером хиломикронов, апопротеин В 100 (более крупный, чем В 48) является характерным компонентом ЛПОНП и образующихся из них частиц липопротеинов. В оболочке ЛПОНП содержатся также апопротеины Е и С, равно как и свободный холестерол. На долю хиломикронов и ЛПОНП приходится бóльшая часть триацилглицеролов плазмы. Натощак, когда чаще всего и проводят лабораторные анализы, практически все определяемое количество триацилглицеролов в норме содержится в ЛПОНП.

Как уже отмечалось, частицы ЛПОНП содержат и апопротеин С, причем, как и в случае хиломикронов, триацилглицеролы высвобождаются из них в результате совместного действия липопротеинлипазы и апопротеина С II. Кроме того, аналогично хиломикронам некоторые фрагменты оказавшихся в избытке оболочек ЛПОНП, состоящие из фосфолипидов, белка и холестерола, включаются в ЛПВП с помощью присутствующего в плазме белка-переносчика фосфолипидов плазмы (см. Tall et al.). Остаток, образовавшийся после отщепления фрагментов оболочки, — это главным образом ЛППП, содержащие весь апопротеин В 100, ранее входивший в состав ЛПОНП, и некоторое количество триацилглицеролов. ЛППП могут либо взаимодействовать с рецептором апопротеинов В 100-Е гепатоцитов (называемым также рецептором ЛПНП, см. ниже) и подвергаться эндоцитозу и метаболизму, либо атаковаться липазой печени, которая экстрагирует из ЛППП большую часть оставшихся триацилглицеролов и тем самым превращает ЛППП в ЛПНП.

Липопротеины низкой плотности

В составе ЛПНП содержится 60—70% всего холестерола плазмы крови, в основном этерифицированного. Главная функция ЛПНП — доставка холестерола в периферические клетки, где он используется для образования мембран, синтеза стероидных гормонов или (в гепатоцитах) желчных кислот. У человека бóльшая часть ЛПНП образуется из ЛППП, как описано выше, хотя имеются некоторые указания и на непосредственную секрецию небольшого количества ЛПНП печенью.

В 1973 г. Браун и Гольдстейн обнаружили, что ЛПНП поглощаются фибробластами человека in vitro в комплексе со специфическим рецептором плазматической мембраны. На рис. 15-2 мы попытались суммировать современные представления об этом процессе, сложившиеся за последние 12 лет. В последующем изложении цифры в скобках соответствуют таковым на рис. 15-2.

(1) ЛПНП в отличие от хиломикронов и ЛПОНП — небольшие частицы, и благодаря этому способны проникать во внесосудистое пространство, где связываются со специфическим рецептором (2) на поверхности клеток. Тот же рецептор способен связывать и небольшие частицы ЛППП, хотя бóльшая их часть захватывается печенью. ЛПНП содержат главным образом апопротеин В 100, тогда как ЛППП — В 100 и Е. Рецептор ЛПНП называют иногда рецептором В 100-Е, поскольку он распознает оба апопротеина. В настоящее время выяснена структура гена рецептора В 100-Е и установлена его локали-

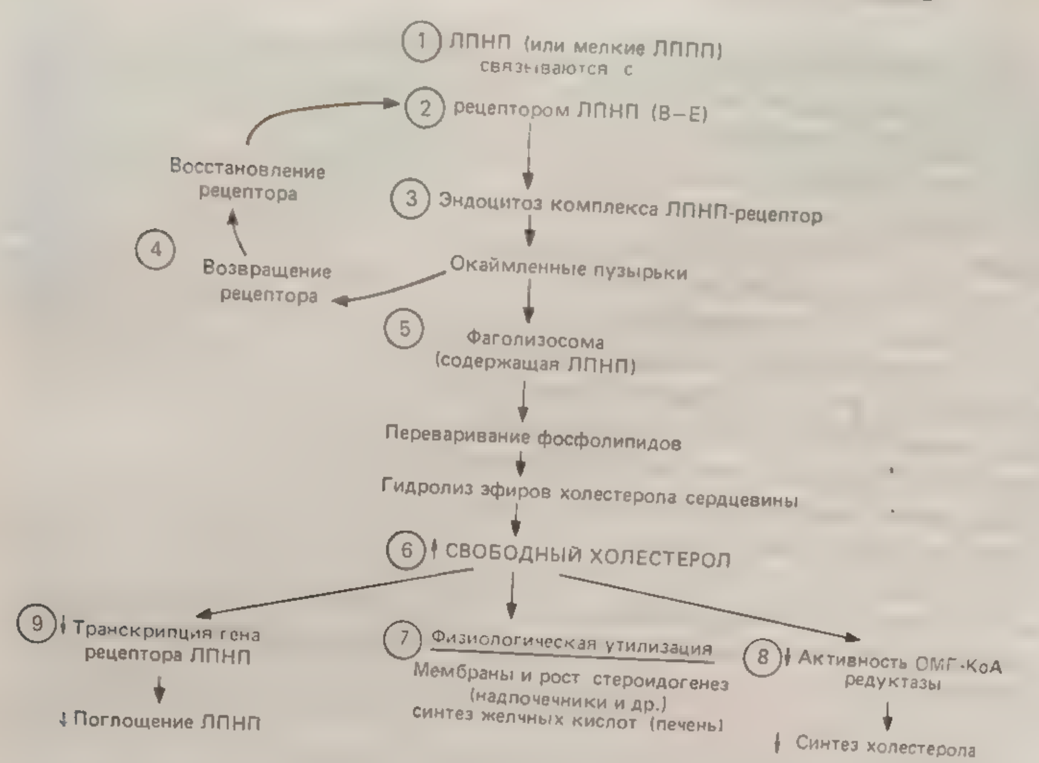


Рис. 15-2. Опосредованный рецептором метаболизм ЛПНП (в основном по Brown and Goldstein).

зация на 19-й хромосоме (Sudher et al.). (Кстати, ген самого апопротеина Е тоже расположен на 19-й хромосоме, что, вероятно, свидетельствует о совместной эволюции лиганда и его рецептора.)

Комплексы ЛПНП с рецепторами собираются в окаймленных ямках, т. е. участках плазматической мембраны, покрытых особой оболочкой, содержащей белок клатрин. Затем эти комплексы подвергаются эндоцитозу, т. е. постепенно втягиваются внутрь клетки по мере того, как края углубления смыкаются, образуя замкнутую вакуоль (3). Как и при эндоцитозе комплексов пептидных гормонов с рецепторами, и в этом случае существует механизм возвращения рецептора (но не ЛПНП) из внутриклеточной вакуоли через аппарат Гольджи в плазматическую мембрану клетки (4). На какой-то стадии процесса мембрана вакуоли сливается с лизосомой, образуя фаголизосому, содержащую ЛПНП (5). Затем лизосомные фрагменты переваривают фосфолипидную оболочку ЛПНП и гидролизуют эфиры холестерола, содержащиеся в сердцевине, приводя к увеличению концентрации свободного холестерола ($[X]_к$) в клетке (6).

Это увеличение $[X]_к$ имеет несколько следствий: (7) свободный холестерол может либо непосредственно утилизироваться,

либо запасаться после этерификации под действием фермента ацил-КоА-холестерол-ацилтрансферазы. Свободный холестерол может встраиваться в мембраны или служить предшественником стероидных гормонов и желчных кислот.

С другой стороны, немаловажно и то, что повышение $[X]_к$ тормозит синтез холестерола de novo (8). Высокая концентрация холестерола ингибирует фермент гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазу, которая катализирует восстановление гидроксиметилглутарил-КоА (ГМГ-КоА-редуктаза) в мевалоновую кислоту.

При длительном поступлении холестерола в организм в клетках появляется еще один механизм защиты от переизбытка холестерола: повышение $[X]_к$ *снижает транскрипцию гена рецептора ЛПНП* (9). Эта снижающая регуляция приводит к резкому уменьшению числа рецепторов ЛПНП, способных поглощаться клеткой. Действительно, если в организм долгое время поступает слишком много холестерола, указанный выше физиологический защитный механизм может обусловить повышение концентрации холестерола в крови за счет нарушения опосредованной рецепторами элиминации ЛПНП. Установлено, что скорость удаления (клиренс) радиоактивно меченных ЛПНП из крови прямо пропорциональна числу рецепторов ЛПНП на мембране периферических клеток.

У здорового человека печень и периферические клетки и ткани — за счет опосредованного рецепторами захвата — удаляют из крови примерно две трети ЛПНП плазмы. Остальные ЛПНП покидают кровяное русло в результате процессов, не связанных с рецептором В 100-Е. В одном из таких процессов принимает участие рецептор, способный распознавать не сами ЛПНП, а их химически модифицированные формы. Этот рецептор называют по-разному: рецептор *ацетил*-ЛПНП или *клеточный рецептор-«уборщик»*. Он обнаружен на макрофагах и эндотелиальных клетках, не связывающих нативные ЛПНП. Хотя природа химической модификации ЛПНП, предположительно происходящей in vivo, точно не известна, однако показано, что клетки человека in vitro превращают ЛПНП в форму, захватываемую макрофагами. Макрофаги могут непрерывно элиминировать большие количества модифицированных ЛПНП, поскольку рецептор-«уборщик» в отличие от рецептора В-Е, очевидно, не подвергается снижающей регуляции лигандом. С другой стороны, макрофаги, способность которых к поглощению избыточных количеств модифицированных ЛПНП возрастает при высоком уровне последних в крови, играют существенную роль в процессе образования пенистых клеток при атеросклерозе. Описано и поглощение ЛПНП, не опосредованное рецепторами (см. Mahley, 1985).

Липопротеины высокой плотности

Липопротеины высокой плотности (ЛПВП) выполняют роль «уборщика» свободного холестерола, избыток которого они «собирают» с поверхности периферических клеток и переносят в печень, откуда холестерол либо экскретируется, либо возвращается в кровь. ЛПВП дают еще один пример коферментной функции апопротеинов (активация ЛПЛ апопротеином С II была первым). Когда ЛПВП «собирают» свободный холестерол (который, подобно фосфолипидам, обладает гидрофильным доменом), бóльшая его часть первоначально остается в наружной оболочке. Однако в крови ЛПВП ассоциированы с ферментом лецитин-холестерол-ацилтрансферазой. Этот фермент катализирует образование эфиров из холестерола и жирных кислот, высвобождающихся из фосфолипидов. Затем эфиры холестерола либо запасаются в сердцевине ЛПВП, либо переносятся на другие липопротеины с помощью специального транспортного белка плазмы.

Концепция *обратного транспорта холестерола* (т. е. переноса его из периферических тканей в печень для экскреции, в котором основная роль принадлежит ЛПВП) впервые была предложена Гломсетом (см. Bierman, Glomset). При нарушении этого процесса и возвращении в печень для экскреции недостаточного количества холестерола в крови увеличивается концентрация переносящих холестерол липопротеинов. Некоторые частицы ЛПВП, которые приобрели апопротеин Е, сами могут элиминироваться из крови гепатоцитами. Другая часть эфиров холестерола из ЛПВП с помощью упомянутого выше транспортного белка может включаться в состав ЛПОНП или ЛППП, которые содержат апопротеины В 100 и Е, связываемые рецепторами гепатоцитов. Именно способность «собирать» холестерол, этерифицировать его и превращать в формы, которые могут захватываться клетками печени и подвергаться в них дальнейшим превращениям, позволяет рассматривать ЛПВП как липопротеины, препятствующие развитию гиперхолестеринемии.

ЛПВП играют и важнейшую роль в активном обмене апопротеинами, который осуществляется между липопротеинами разных классов. Уже упоминалось о том, что ЛПВП отдают апопротеин С новообразованным хиломикронам, которые вследствие этого приобретают чувствительность к липопротеинлипазе. Отмечалось также, что фрагменты оболочки (фосфолипиды, апопротеин С, холестерол и др.), образующиеся при действии липопротеинлипазы на хиломикроны и ЛПОНП, включаются в ЛПВП. Таким образом, ЛПВП, новообразованные частицы которых секретируются печенью и кишечником, в крови постоянно изменяются, приобретая, отдавая или обмениваясь различными компонентами.

Некоторые свойства отдельных апопротеинов приведены в табл. 15-1.

Таблица 15.1. Некоторые отличительные особенности апопротеинов[1]

Апопротеин	Источник	Структура	Свойства
A I	Печень, кишечник	243 аминокислоты	Связывает липиды, структурная роль, основной апопротеин ЛПВП, кофактор лецитин-холестерол-ацилтрансферазы (ЛХАТ)
A II	Печень	Димер, структура установлена	Связывает липиды, второй апопротеин ЛПВП
A IV	Печень, кишечник	?	Кофактор ЛХАТ
B 48	Кишечник	?	Маркер хиломикронов
B 100	Печень	Выяснена неполностью	Лиганд для рецептора В-Е, маркер ЛПОНП
C I	Печень (кишечник)	Мол. масса 6605	Активирует ЛХАТ, участвует в этерификации холестерола ЛПВП (?)
C II	Печень (кишечник)	Мол. масса 8824	Активирует ЛПЛ
C III	Печень (кишечник)	Мол. масса 8750	Гликопротеин
E (шесть фенотипов)	Печень	В основном выяснена	Связывается с рецептором В-Е (ЛПНП), основной лиганд для остатков хиломикронов в печени

[1]) По Schaefer E., Levy R. I. (1985). N. Engl. J. Med., 312, 1300, с модификациями.

Нарушения метаболизма липопротеинов в норме и патологии

Большинство специалистов признают связь между гиперлипопротеинемией (в особенности связанной с ЛПНП) и повышенным риском наиболее частых осложнений атеросклероза — ишемической болезни сердца и инсульта. Источником липидов, накапливающихся в атеросклеротических бляшках, служат липиды крови, главным образом ЛПНП. Определенный вклад в возрастание риска может вносить и одновременное повышение уровня ЛПОНП. Еще одним фактором риска можно считать низкое содержание ЛПВП *на фоне повышенного уровня ЛПНП*.

Нарушения метаболизма липопротеинов вызываются как внешними причинами, так и генетическими факторами. Эпидемиологические исследования среди различных групп населения и новорожденных младенцев в регионах, характеризующихся

повышенной частотой атеросклероза, показывают, что так называемые «нормальные» уровни липидов в этих регионах на самом деле отражают наличие гиперлипопротеинемии. При повышении содержания общего холестерола (главным образом ЛПНП) сверх 220 мг% (что обычно считается «нормой» для промышленно развитых стран) риск сосудистых заболеваний резко возрастает. Как уже отмечалось, этот риск еще более возрастает при одновременном повышении ЛПНП и *снижении* ЛПВП.

Изменения содержания липидов в крови — не *единственная* причина атеросклероза. Отложение липидов под интимой и в стенках артерий — результат очень сложного процесса, в котором участвуют (по меньшей мере) нарушения агрегации тромбоцитов, фактор роста из тромбоцитов и клеточные реакции на него, гормон роста, метаболизм арахидоновой кислоты и многие другие составляющие. Кроме того, способность организма переносить обширные атеросклеротические поражения коронарных сосудов без летальных последствий зависит и от наличия или развития коллатерального кровообращения. Иными словами, восприимчивость сосудов к атерогенному действию липопротеинов, равно как и способность адаптироваться к постепенному увеличению липидных отложений в сосудах, у разных людей неодинакова.

Некоторые примеры генетических нарушений метаболизма липопротеинов

Семейная гиперлипидемия

Патофизиологические механизмы развития данного заболевания расшифрованы Брауном и Гольдстейном, а также многими другими исследователями. В США это заболевание встречается как у гомозигот (1 : 1 000 000), так и у гетерозигот (1 : 500). Больных с гомозиготной семейной гиперлипидемией отличают приступы стенокардии в детском или подростковом возрасте, тогда как у лиц с гетерозиготной формой этого заболевания такие приступы часто появляются только в раннем среднем возрасте. Повышенный уровень ЛПНП у этих больных обусловлен одним из нескольких возможных дефектов гена, кодирующего рецептор ЛПНП, что в конечном счете препятствует элиминации ЛПНП из крови. Поскольку ЛПНП образуются из ЛПОНП через ЛППП, а примерно половина ЛППП поглощается печенью с помощью рецептора ЛПНП, постольку при дефекте этого рецептора ЛППП накапливаются в крови. При этом происходит избыточное образование ЛПНП из ЛППП; концентрация в крови ЛПНП, и без того повышенная из-за нарушения пути их элиминации, еще более возрастает. У гомозигот болезнь выражена гораздо сильнее потому, что они наследуют два дефектных гена рецептора ЛПНП,

тогда как у гетерозигот один ген дефектный, а второй — нормальный.

Хотя все известные генетические дефекты белка-рецептора ЛПНП обусловливают одни и те же нарушения (т. е. недостаточное связывание и эндоцитоз ЛПНП), эти дефекты выявляются на разных стадиях формирования рецептора. При обследовании 77 больных семейной гиперлипидемией было обнаружено семь мутаций (Tolleshaug et al.). При одной из них отсутствовал предшественник рецептора, в норме определяемый с помощью иммунопреципитации. При другой — предшественник синтезировался, но не транспортировался в плазматическую мембрану. В остальных случаях рецептор достигал плазматической мембраны, но не был способен связывать ЛПНП должным образом. Эти данные показывают, что точечные мутации (замена отдельных аминокислот) могут на различных этапах нарушать последовательность событий: синтез→транспорт→встраивание в мембрану→→функция рецептора. Таким образом, мутации одного гена могут влиять на разные стороны процесса.

Мутации, приводящие к нарушению метаболизма липопротеинов, могут затрагивать гены не только рецепторов, но и других белков. Из длинного списка генетически обусловленных гиперлипопротеинемий можно выбрать два примера, иллюстрирующих это положение. Во-первых, описана редкая *генетическая недостаточность фермента липопротеинлипазы (ЛПЛ)*, определяющего в основном экстракцию и гидролиз триацилглицеролов из хиломикронов и ЛПОНП. Поэтому в таких условиях постоянно наблюдается хиломикронемия, но концентрация холестерола в сыворотке при этом не повышена; в данном случае риск раннего атеросклероза отсутствует. Во-вторых, существуют нарушения структуры апопротеина Е, что препятствует захвату печенью остатков хиломикронов и ЛППП из крови. (Ссылки на работы по наследственным гиперлипопротеинемиям см. Bierman, Glomset, а также Brown, Goldstein, 1985.)

Пищевые жиры и холестерол

Условия окружающей среды, особенно состав диеты и характер физической активности, оказывают значительное влияние на состав липидов крови. Например, у японцев, переехавших на Гавайи или в Калифорнию, из-за изменения характера питания и образа жизни происходит прогрессирующее увеличение концентрации холестерола в сыворотке крови.

Известно, что диета, богатая холестеролом и насыщенными жирами, может способствовать увеличению концентрации ЛПНП (и холестерола) в плазме крови. Люди по-разному реагируют на такую диету, и некоторые «счастливчики» могут в течение многих

десятилетий съедать по два яйца ежедневно без каких-либо вредных последствий. Причина этих различий не установлена, и для их объяснения предложена концепция «латентных дислипопротеинемий», что означает просто меньшую способность одних людей по сравнению с другими компенсировать избыток потребляемого холестерола и насыщенного жира, скорее всего, из-за генетических особенностей (см. Gennes et al.). Некоторые специалисты рекомендуют переход всего общества на «сбалансированную» диету (т. е. снижение потребления красного мяса, замену его на рыбу и курятину в качестве источника белка, потребление грубой волокнистой пищи, ограничение холестерола и частичная замена насыщенных жиров полиненасыщенными); другие считают необходимым изменение диеты только для отдельных лиц, характеризующихся сдвигами липидов крови или угрожающим семейным анамнезом. За последнее десятилетие и более в США наблюдается снижение частоты инфарктов миокарда и инсультов. Причины этого снижения неясны, но имеются данные о сознательном уменьшении многими людьми потребления насыщенных жиров и холестерола, повышении физической активности, контролировании артериального давления и отказе от курения.

Большинство современных данных позволяют утвердительно ответить на вопрос: «Могут ли мероприятия по снижению уровня холестерола в крови улучшить прогноз для лиц с высоким содержанием ЛПНП?» (См., например, «Клиническую программу исследований липидов» — Lipid Research Clinics Program).

Эндокринные и другие вторичные формы гиперлипопротеинемии

В тех случаях, когда гиперлипопротеинемия оказывается вторичной по отношению к эндокринным или другим расстройствам, содержание липидов в крови можно нормализовать, воздействуя на первичное патофизиологическое нарушение. Некоторые примеры вторичных гиперлипопротеинемий приведены ниже.

Как отмечалось в гл. 14, повышение уровня ЛПОНП (и иногда хиломикронов) часто наблюдается при *диабете*. Это обусловлено как снижением скорости элиминации триацилглицеролов из крови (инсулин необходим для продукции адипоцитами липопротеинлипазы), так и повышением скорости секреции ЛПОНП (гиперинсулинемия при диабете II типа приводит к воздействию на печень больших концентраций инсулина, поступающих через воротную вену, которые стимулируют липогенез и секрецию ЛПОНП). У *тучных* людей, не страдающих диабетом, уровень ЛПОНП возрастает в силу аналогичных причин, поскольку снижающая регуляция рецепторов инсулина и различные сопутствующие сдвиги на пострецепторном уровне придают клетке инсу-

линорезистентность и создают тем самым дефицит липопротеинлипазы. У таких лиц обнаруживается обычно и гиперинсулинемия. Как при диабете, так и при ожирении коррекция первичных нарушений нормализует липидный состав крови.

При *беременности*, а также у женщин, получающих *эстрогены* (либо в чистом виде, либо в составе *пероральных контрацептивных препаратов*), может наблюдаться повышение уровня ЛПОНП в сыворотке крови.

Нарушением обмена липопротеинов сопровождаются, как правило. *ГИПОтиреоз* и *ГИПЕРадренокортицизм* (болезнь Кушинга). При адекватной коррекции эндокринных сдвигов такие нарушения исчезают.

Подобно этому, повышение уровня ЛПОНП и (или) ЛПНП может иметь место у некоторых лиц с различными *заболеваниями почек*. У лиц, страдающих *алкоголизмом*, тоже обнаруживается высокая концентрация ЛПОНП (и хиломикронов), снижающаяся при воздержании от приема алкоголя.

В табл. 15.2 приведены некоторые факторы, способные повышать и снижать уровень ЛПНП и ЛПВП.

Лечение гиперлипопротеинемий

Этот вопрос рассматривается здесь только для того, чтобы еще раз подчеркнуть, что рациональная терапия данных состояний, равно как и всех других, о которых речь шла выше, основывается на понимании их патофизиологических механизмов. Если установлено, что гиперлипопротеинемия вторична по отношению к основному заболеванию, то лечение должно быть направлено на коррекцию первичного нарушения. Точно так же, для того чтобы выработать стратегию лечения, необходимо знать профиль липопротеинов в сыворотке крови.

Выраженность гиперлипидемии может колебаться в широких пределах — от легкой до гомозиготной семейной. Менее тяжелые формы (особенно гипертриацилглицеролемия) обычно проходят при *снижении массы тела* и (или) потреблении *«предохранительной»* диеты, описанной выше (см. обзор Goldberg, Schonfeld). Если же эти консервативные меры оказываются безуспешными, то для изменения метаболизма липопротеинов в желаемую сторону можно использовать *лекарственные средства* (фактические данные см. Brown, Goldstein, 1985). Обнадеживающие результаты дали опыты по использованию различных *хирургических* вмешательств.

Диета и физическая нагрузка

Рекомендации по диетическому лечению гиперлипопротеинемий обобщены Комитетом Американской кардиологической ассоциации (Grundy, 1984). Комитет считает, что: 1) жиры должны

Таблица 15.2. Факторы, влияющие на уровень липопротеинов у человека

Повышение ЛПНП	Снижение ЛПНП
Пол (у мужчин выше, чем у женщин в пременопаузе, и ниже, чем у женщин в постменопаузе)	
Старение	Новорожденные
Насыщенные жиры в диете	Полиненасыщенные жиры в диете
Высокое потребление холестерола	Низкое потребление холестерола
Диета с низким содержанием грубых волокнистых продуктов	Диета с высоким содержанием грубых волокнистых продуктов
Потребление алкоголя	Воздержание от алкоголя
Беременность	Роды
Ожирение	Потеря массы тела
Диабет	Эффективное лечение
Гипотиреоз	» »
Болезнь Кушинга	» »
Уремия	» »
Нефроз	» »
Семейные гиперлипидемии	
Повышение ЛПВП	**Снижение ЛПВП**
Рыба (белок)	Вегетарианство, углеводная диета
Этанол	Отказ от употребления этанола
Физические нагрузки	Сидячий образ жизни, ожирение
Эстрогены	Прогестины, андрогены
Гипотиреоз	Эффективное лечение
β-Агонисты	β-Блокаторы
Эффективное лечение	Диабет
	Курение

составлять не более 30% общей калорийности диеты; 2) отношение полиненасыщенных жиров к насыщенным (коэффициент П/Н) примерно должно равняться 1 (обычно это достигается за счет ограничения потребления насыщенных жиров); 3) потребление холестерола не должно превышать 300 мг в день. Показано, что диеты с высоким коэффициентом П/Н снижают уровень ЛПНП в крови; этот феномен не имеет общепризнанного объяснения. Чрезмерное потребление полиненасыщенных жиров не рекомендуется, поскольку отдаленные последствия этого неизвестны. Указанная выше диета рекомендуется лицам, страдающим ожирением, причем нередко им нужно сократить потребление жиров, чтобы достичь необходимого снижения общей калорийности рациона. Лицам, ведущим малоподвижный образ жизни, рекомендуются физические нагрузки.

Лекарственные вещества

Было предложено большое число лекарственных веществ, снижающих уровень липидов в крови, но многие из них оказались отвергнутыми из-за нежелательных побочных эффектов. Несколько эффективных или перспективных средств тем не менее заслуживают особого внимания, главным образом чтобы проиллюстрировать их действие на различные стадии метаболизма липопротеинов и показать, что не существует универсального препарата, помогающего всем больным с гиперлипопротеинемией.

Смолы, связывающие желчные кислоты (анионообменные), такие, как *холестирамин* и *колестипол*, стимулируют захват ЛПНП и экскрецию холестерола печенью. Их эффект основан на том, что превращение холестерола в желчные кислоты тормозится продуктами реакции, т. е. желчные кислоты препятствуют своему собственному синтезу. Поэтому, когда смолы ингибируют захват желчных кислот в просвете кишечника и тем самым препятствуют их возврату в печень, активируется превращение холестерола в желчные кислоты. Это приводит к снижению концентрации холестерола в печени и, следовательно, к усиленному синтезу рецепторов ЛПНП. В результате ускоряется и удаление ЛПНП из крови. Кроме того, связывание смолами больших количеств желчных кислот приводит и к меньшему всасыванию холестерола. Хотя эти смолы неприятны на вкус и вызывают некоторые побочные эффекты, они наименее токсичны из всех веществ данной группы. Как показали исследования, среди лиц с гиперхолестеринемией, принимающих холестирамин, частота ишемической болезни сердца существенно меньше, чем среди лиц контрольной группы, получающих плацебо.

На первый взгляд все это на удивление хорошо. Однако смолы обладают одним эффектом, серьезно ограничивающим возможность их применения: дело в том, что снижение уровня холестерола в тканях снимает торможение с его собственного синтеза; в результате эндогенный синтез холестерола возрастает, что противодействует положительному влиянию смол. Это обусловило испытание двух соединений, *ингибирующих эндогенный синтез холестерола* на этапе гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазы: *компактина* и *мевинолина*. Предварительные результаты испытаний свидетельствуют о том, что совместное применение смол, связывающих желчные кислоты, и ингибиторов синтеза холестерола более эффективно снижает уровень ЛПНП в сыворотке крови, чем одни смолы.

Другим полезным средством оказалась *никотиновая кислота* (в дозах, превышающих витаминные). Это вещество снижает уровень как ЛПОНП, так и ЛПНП за счет ингибирования липолиза

в адипоцитах, снижения секреции ЛПОНП печенью и стимуляции активности липопротеинлипазы; действительно, влияние никотиновой кислоты на липопротеинлипазу подобно эффекту инсулина. Как и в случае компактина, комбинация смол и никотиновой кислоты дает аддитивный эффект. *Клофибрат* оказывает сложное влияние на липиды крови и, в частности, повышает активность липопротеинлипазы. Его применение ограничено из-за побочных эффектов, но он представляет интерес с исторической точки зрения. Недавно с определенным успехом был апробирован аналог клофибрата — *гемфиброзил*. Оба этих вещества не только снижают уровни ЛПОНП и ЛПНП, но и повышают содержание ЛПВП. (Подробное обсуждение и данные, касающиеся фармакологии липидоснижающих агентов, см. Brown, Goldstein, 1985.)

Хирургическое лечение

Гиперлипопротеинемию, которая не поддается всем перечисленным выше способам терапии, называют тяжелой или гомозиготной семейной формой заболевания. На нескольких больных были испробованы хирургические способы лечения с результатом, оправдывающим дальнейшие исследования. Поскольку одновременно с ЛПНП могут удаляться и ЛПВП, одна из групп исследователей предложила *избирательное* удаление ЛПНП путем их взаимодействия со специфическими антителами (сорбированными на твердой фазе) и с последующим обратным введением в кровь всех остальных компонентов плазмы.

Другой перспективный путь — это пересадка печени. Пока известно лишь одно сообщение о трансплантации генетически нормальной печени (и сердца) шестилетнему ребенку с гомозиготной семейной гиперлипидемией, который уже перенес два приступа стенокардии. Спустя 18 мес после операции уровень ЛПНП в сыворотке крови больного снизился более чем на 80%. С улучшением методики трансплантации столь радикальный подход, возможно, будет приносить пользу отдельным больным. Это сообщение Билхеймера и др. (Bilheimer et al.) упомянуто здесь как пример особенно тонкого клинического эксперимента. Несомненно, это самым впечатляющим образом подтверждает роль печеночных рецепторов ЛПНП в удалении из организма избытка холестерола.

Литература[1]

Bierman E. L., Glomset J. A. (1985). Disorders of lipid metabolism. In: Wilson J. D., Foster D. W. (eds.). Williams Textbook of Endocrinology, ed. 7. Philadelphia, W. B. Saunders Co., pp. 1108—1136.

[1] См. примечание на с. 40.

Bilheimer D. W., Goldstein J. L., Grundy S. M. et al. (1984). Liver transplantation to provide low-density-lipoprotein receptors and lower plasma cholesterol in a child with homozygous familial hypercholesterolemia, N. Engl. J. Med., **311**, 1658.

Brown M. S., Goldstein J. L. (1984). How LDL receptors influence cholesterol and atherosclerosis, Sci. Am., **251**, 58.

Brown M. S., Goldstein J. L. (1985). Drugs used in the treatment of hyperlipoproteinemias. In: Gilman A. G., Rall T. W., Murad F. (eds.). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, ed. 7, New York, Macmillan Publishing Co., pp. 827—845.

Cooper A. D. (1985). Role of the liver in the degradation of lipoproteins, Gastroenterology, 88, 192.

DeGennes J. L., Polonovski J., Paoletti R. (eds.) (1984). Latent Dyslipoproteinemias and Atherosclerosis, New York, Raven Press.

Eisenberg S. (1984). High-density lipoprotein metabolism, J. Lipid. Res., **25**, 1017.

Goldberg A. C., Schonfeld G. (1985). Effects of diet on lipoprotein metabolism, Annu. Rev. Nutr., **5**, 195.

Goldstein J. L., Brown J. S. (1984). Progress in understanding the LDL receptor and HMG-CoA reductase: Two membrane proteins that regulate the plasma cholesterol, J. Lipid. Res., **25**, **1450**.

Gotto A. M., Jr. (1985). Some reflections on arteriosclerosis: Past, present, and future, Circulation, **72**, 8.

Grundy S. M. (1983). Absorption and metabolism of dietary cholesterol, Annu. Rev. Nutr., **3**, 71.

Grundy S. M. (1984). AHA special report: Recommendations for the treatment of hyperlipidemia in adults: A joint statement of the Nutrition Committee and the Council on Arteriosclerosis of the American Heart Association, Arteriosclerosis, **4**, **445A**.

Havel R. J. (1984). The formation of LDL: Mechanisms and regulation. J. Lipid. Res., **25**, 1570.

Knott T. J., Rall S. C., Jr., Innerarity T. L. et al. (1985) Human apolipoprotein B: Structure of carboxyl terminal domains, sites of gene expression, and chromosomal localization, Science, **230**, 37.

Lehrman M. A., Schneider W. J., Sudhof T. C. et al. (1985). Mutation in LDL receptor: Alu-Alu recombination deletes exons encoding transmembrane and cytoplasmic domains, Science, **227**, 140.

Lewis B. (1983). The lipoproteins: Predictors, protectors, and pathogens, Br. Med. J., **287**, 1161.

Lipid Research Clinics Program: The lipid research clinics coronary primary prevention trial results: II The relationship of reducion in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering, JAMA, 1984, **251**, 365

Mahley R. W., Innerarity T. L., Rak S. C. et al. (1984). Plasma lipoproteins: Apolipoprotein structure and functions, J. Lipid Res., **25**, 1277.

Mahley R. W. (1985) Atherogenic lipoproteins and coronary artery disease: Concepts derived from recent advances in cellular and molecular biology, Circulation, **72**, 943.

Motulsky A. G. (1986) The 1985 Nobel prize in physiology or medicine, Science, **231**, 126.

Norum K. R., Berg T., Helgerud P. et al. (1983). Transport of cholesterol, Physiol. Rev., **63**, 1343.

Pittman R. C., Steinberg D. (1984) Sites and mechanisms of uptake and degradation of high density and low-density lipoproteins, J. Lipid Res., **25**, 1577.

Schaefer E., Levy R. I. (1985). Pathogenesis and management of lipoprotein disorders, N. Engl. J. Med., **312**, 1300.

Stoffel W., Borberg H., Greve V. (1981). Application of specific extracorporeal removal of low-density lipoprotein in familial hypercholesterolemia, Lancet, **2**, 1005.

Sudhof T. C., Goldstein J. L., Brown M. S. et al. (1985). The LDL receptor gene: A mosaic of exons shared with different proteins, Science, 228, 815.
Tall A. R., Krumholz S., Olivecrona T. et al. (1985). Plasma phospholipid transfer protein enhances transfer and exchange of phospholipids between very low density lipoproteins and high density lipoproteine during lipolysis, J. Lipid Res., 26, 842.
Tolleshaug H., Hobgood K. K., Brown M. S. et al. (1983). The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia: Multiple mutations disrupt transport and processing of a membrane receptor, Cell, 32, 941.

Глава 16

Энергетический баланс

Некоторые хронологические вехи в изучении энергетического баланса

Дата		*Исследователи*
1776	Постулировано существование «нервов голода» в слизистой желудка	Галлер (Haller)
1826	Постулировано существование центра голода в мозге	Мажанди (Magendie)
1840	Описано ожирение, связанное с опухолью гипофиза, сдавливающей мозг	Мор (Mohr)
1900	Обнаружено сохранение регуляции аппетита и потребления пищи после денервации желудка или его удаления	Шеррингтон (Sherrington)
1901	Описано ожирение и недоразвитие гонад вследствие опухоли гипофиза. Подчеркнута гипофизарная этиология ожирения	Фрёлих (Fröhlich)
1912	Показано, что ожирение у собак после гипофизэктомии возникает только при повреждении основания мозга	Ашнер (Aschner)
1916	Обнаружена зависимость сокращений желудка при голоде от концентрации глюкозы в крови	Карлсон (Carlson)
1921	Получено экспериментальное ожирение у собак с неповрежденным гипофизом	Бейли (Bailey), Бремер (Bremer)
1940	Описано гипоталамическое ожирение у крыс; подчеркнута роль снижения физической активности	Хетерингтон (Hetherington), Рансон (Ranson)
1943	Описано гипоталамическое ожирение у крыс; подчеркнута роль переедания	Бробек и др. (Brobeck et al.)

1947	Показана адаптация животных к «разведению» пищи инертными веществами, проявляющаяся в увеличении потребления пищи	Адольф (Adolph)
1951	Изучено генетически детерминированное ожирение у мышей	Майер и др. (Mayer et al.)
1951	Воспроизведена афагия у крыс путем повреждения тканей латеральной области гипоталамуса	Ананд (Anand), Бробек (Brobeck)

Функционирование организма животных подчиняется тем же законам термодинамики, что и весь остальной физический мир. Если количество энергии в пище, потребляемой человеком, точно соответствует его общим энергетическим затратам, то говорят об энергетически сбалансированном состоянии. Состояния положительного энергетического баланса можно добиться либо путем потребления пищи в количестве, превышающем расход энергии, либо путем снижения расхода энергии, либо тем и другим вместе. Аналогично снижение потребления пищи при увеличении энергетических потребностей приводит к отрицательному энергетическому (калорическому) балансу. Все это настолько очевидно, что вряд ли требует пояснений.

Значение проблемы энергетического баланса для физиологии, медицины и здравоохранения невозможно переоценить. Во многих странах мира огромное число людей страдает от недостатка пищи и вынуждено поэтому адаптироваться к хроническому недоеданию. Речь идет не только о количественном дефиците калорий. Зачастую пища имеет плохое качество, и в организм поступает недостаточно добавочных пищевых факторов. С другой стороны, в развитых странах население обеспечено обильной пищей, а также всеми мыслимыми возможностями снижения физической активности, и оба этих обстоятельства способствуют высокой частоте ожирения. Последнее составляет одну из наиболее важных проблем здравоохранения развитых стран, поскольку страдающие ожирением предрасположены ко многим сосудистым и метаболическим заболеваниям. Ожидаемая продолжительность жизни у лиц с избыточной массой тела существенно меньше, чем у лиц со средней массой тела, и страховые компании постоянно напоминают об этом (рис. 16-1).

Общепринято, что у тучных людей в возрасте 20—50 лет риск смерти выше, чем в более пожилом возрасте (см. рис. 16-1). Недавно Андрес и др. (Andres et al.) составили новые таблицы, устанавливающие оптимальные соотношения между ростом и массой тела; в них для возраста 55 лет и старше указана бо́льшая масса тела, чем прежде. Это сделано на основании анализа связи между массой тела и данными о смертности у пожилых лиц: оказалось, что люди с умеренным избытком массы тела (по

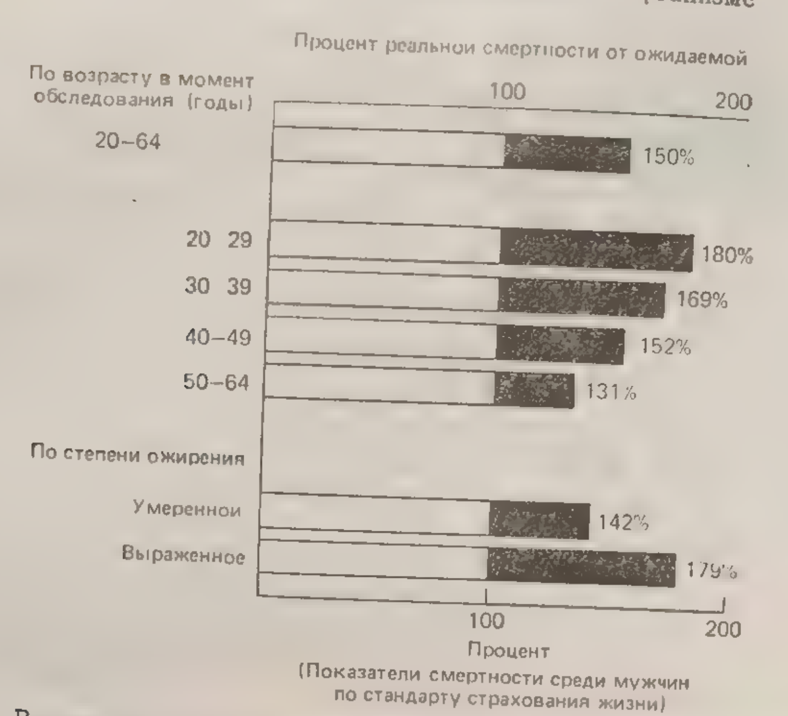


Рис. 16-1. Влияние чрезмерной массы тела на среднюю вероятную продолжительность жизни. *Зачерненные участки* — повышенная смертность среди лиц с увеличенной массой тела на момент выдачи страхового свидетельства. (По Marks H. H. (1960). Bull. N. Y. Acad. Med., **36**, 15.)

прежним стандартам) имеют лучший прогноз по сравнению с более худыми людьми. Учитывая множество других, помимо массы тела, переменных, влияющих на показатель смертности, не удивительно, что ряд специалистов не разделяют точку зрения Андерса.

Позднее будет показано, что практика объединения всех тучных людей в одну группу, как это делалось в прошлом во многих эпидемиологических исследованиях, уже себя не оправдывает. Очевидно, что два человека с равным избытком массы тела, но разным распределением жира в организме далеко не в одинаковой степени подвержены заболеваниям, связанным с ожирением.

Люди различаются по способности к поддержанию энергетического баланса. Так, некоторые легко достигают равновесия между потреблением и расходом энергии, не делая для этого никаких сознательных усилий, тогда как другие, чтобы достичь такого энергетического равновесия, должны долго и упорно следить за массой своего тела.

Учитывая чрезвычайную сложность и разнообразие биохимических и физиологических механизмов, поражает та точность, с которой у человека и животных поддерживается энергетический баланс. Если же принять во внимание бесчисленные возмож-

ности нарушения этого баланса, то высокая частота ожирения в экономически развитых странах не должна казаться удивительной.

На рис. 16-2 приведена графическая иллюстрация сказанного. Этот рисунок показывает, что калорический баланс представляет собой вектор многих сил, которые стремятся сдвинуть его в том или ином направлении. Если эти силы взаимно уничтожают друг друга (например, обильная еда и тяжелая мышечная работа), то баланс может сохраняться.

Ожирение или ожирения!

Поскольку большинство экспериментальных и клинических исследований энергетического баланса связано с проблемой ожирения, в первую очередь следует подчеркнуть три обстоятельства.

1. Ожирение и избыток массы тела — это не синонимы, хотя лица с избыточной массой тела обычно страдают ожирением. Некоторые спортсмены-профессионалы с крайне гипертрофированными мышцами имеют, судя по стандартным таблицам массы и роста, избыточную массу тела, но их жировая ткань не содержит чрезмерных запасов жира, а жировые клетки не увеличены в размерах. Показатели метаболизма у таких лиц соответствуют «норме».

2. Ожирение можно определить как увеличенное отложение триацилглицеролов в адипоцитах. Деление на нормальное и из-

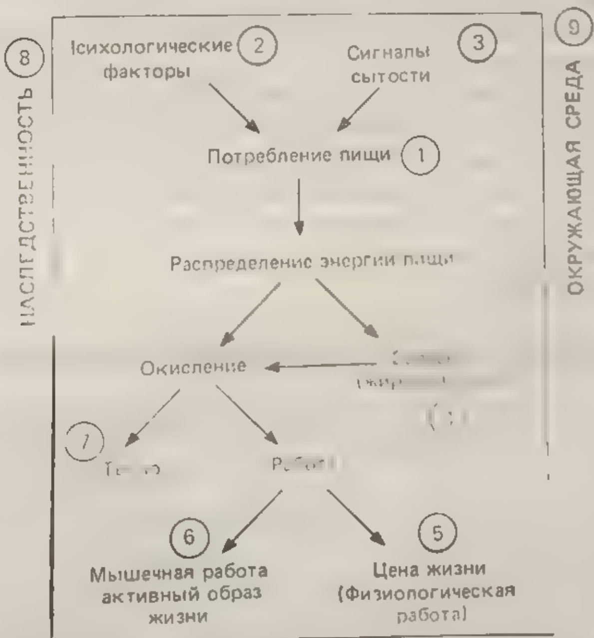


Рис. 16-2. Девять факторов, влияющих на энергетический баланс.

быточное отложение жира произвольно, и разные специалисты по-разному проводят эту границу. Некоторые не считают ожирением такое состояние, при котором масса тела превышает идеальную менее чем на 20%, но эта цифра принимается не всеми. Так, четверо выдающихся британских специалистов по питанию (см. Durnin et al.) полагают, что до 30% мирового населения питается слишком обильно, а в таблицах страховых компаний «идеальная» масса тела завышена. Исходя из тех же соображений, можно считать, что какое-то число людей, которых в настоящее время относят к категории лиц пониженного питания, в действительности получают адекватное количество пищи.

3. Многие клиницисты и эпидемиологи все еще рассматривают ожирение как единое состояние. Однако, подобно анемии или гипертонии, ожирение — это только симптом, а не болезнь. Оно свидетельствует о тех или иных нарушениях энергетического баланса, которые могут возникать по множеству причин. В настоящее время предприняты попытки (см., например, Sims) разработать классификацию ожирения с учетом причин его возникновения в том случае, когда эти причины установлены, и отдельных отличительных признаков. Каждый человек испытывает влияние различных генетических, психологических, физических и метаболических факторов, а также факторов внешней среды (см. рис. 16-2). Наличие или отсутствие отложений жира может определяться разнообразными сочетаниями этих факторов. Как уже отмечалось, в некоторых случаях один фактор может способствовать ожирению, тогда как другой — действовать в противоположном направлении (например, переедание и тяжелая физическая работа).

Один из наиболее важных принципов современных «поведенческих» подходов к проблеме ожирения (см. ниже) заключается в необходимости рассматривать каждого тучного человека в единстве с конкретными условиями его физической и психической деятельности. Такой требующий временны́х затрат анализ иногда позволяет оценить относительную роль отдельных факторов в патогенезе ожирения.

Центральная нервная регуляция потребления пищи

Анализу регуляции потребления пищи в определенной степени мешает семантическая путаница. Целесообразно поэтому определить ряд понятий. *Голод* — это ощущение необходимости приема пищи, которое может сопровождаться сложным комплексом проявлений, включая муки голода, досрочное слюнотечение и активацию поведенческих реакций поиска пищи. В целом голод представляет собой болезненное состояние, неприятное сочетание ощущений, которые по мере усиления приобретают психопа-

тологический характер. *Аппетит* — это желание приема пищи. В отличие от голода, который возникает при истощении запаса пищевых веществ в организме ниже определенного установленного уровня, аппетит может сохраняться даже после удовлетворения голода. На аппетит сильно влияют эмоции, наличие или отсутствие привлекающих или, наоборот, отвлекающих стимулов и различного рода предпочтения. *Сытость* означает отсутствие желания есть, появляющееся после приема пищи. *Анорексию* определяют как состояние, при котором физиологические сдвиги, обычно вызывающие чувство голода, сохраняются, но все возникающие сигналы не реализуются в пищевое поведение.

Основываясь на данных Кеннона, выявившего связь между чувством голода и появлением сильных ритмических сокращений желудка, Карлсон (Carlson) предположил, что органом, посылающим в нервную систему необходимую информацию о голоде или сытости, является желудок. Кроме того, Карлсон предвосхитил широко распространенную в настоящее время точку зрения о том, что к голоду и сытости непосредственное отношение имеет концентрация глюкозы в крови. В его опытах вызванные голодом сокращения желудка усиливались на фоне инсулиновой гипогликемии и исчезали при внутривенном введении глюкозы.

Гипотезе Карлсона противоречили уже имевшиеся данные о возможности поддержания калорического баланса у гастрэктомированных животных, а также более поздние наблюдения над ваготомированными (т. е. с денервированным желудком) больными. Данные Адольфа (Adolph), согласно которым «разведение» диеты инертным наполнителем заставляло крыс увеличивать потребление пищи до уровня, восстанавливающего прежнее количество потребляемых калорий, тоже указывали на значение внегастроинтестинальных факторов в регуляции потребления пищи. Однако в последнее время вновь подчеркивается роль сигналов от полости рта и желудочно-кишечного тракта в определении количества потребляемой пищи.

Экспериментальное гипоталамическое ожирение

Многие клинические и экспериментальные наблюдения, приведенные в хронологической таблице, указывают на какую-то связь между структурами основания мозга и потреблением пищи, но современное понимание этого вопроса стало возможным лишь после того, как Хетерингтон (Hetherington) и Рансон (Ranson) сумели воспроизвести ожирение у крыс путем стереотаксического симметричного двустороннего повреждения гипоталамуса, которое захватывало вентромедиальные ядра. То, что эти повреждения были довольно обширными, а экспериментальные живот-

ные — молодыми, затрудняло интерпретацию результатов и позволяло объяснить развивающееся ожирение не перееданием, а уменьшением спонтанной двигательной активности. Бробек и др. (Brobeck et al.) повреждали меньшие по размерам области и использовали более старых крыс. В таких условиях отчетливо проявлялось именно возрастание потребления пищи животными.

В настоящее время общепризнано, что повреждение вентромедиальных ядер гипоталамуса у молодых животных вызывает ожирение вначале преимущественно за счет снижения спонтанной активности, а не роста потребления пищи. Однако у взрослых животных не происходит обычного снижения потребления пищи, и ее избыток становится важной детерминантной ожирения (G. C. Kennedy). У взрослых крыс основной причиной ожирения можно считать именно повышенное потребление пищи, названное Бробеком «гиперфагией», хотя в отдельных случаях определенную роль играет и снижение двигательной активности.

Синдром гипоталамического ожирения отличается одной любопытной особенностью: животные с поврежденными вентромедиальными ядрами гипоталамуса переедают в условиях свободного доступа к пище, но не слишком утруждают себя, если для получения пищи нужно нажать на педаль или пройти по лабиринту.

Помимо нежелания что-то предпринять для получения пищи животные с гипоталамическим ожирением проявляют так называемую «чрезмерную разборчивость», когда им предлагается еда неприятного запаха или вкуса. Интактные животные переносят гораздо более высокие концентрации сульфата хинина в пище, чем животные с поврежденными вентромедиальными ядрами гипоталамуса. Этот факт еще раз подчеркивает существенное влияние многих факторов на потребление пищи животными с гипоталамическим ожирением, и такие животные действительно обнаруживают к ряду из них повышенную чувствительность. Так, воздействие некоторых аноректогенных средств (см. ниже) на животных, страдающих ожирением, намного сильнее (уменьшение потребления пищи), чем на худых. Кроме того, пища, обогащенная белком или содержащая несбалансированную смесь аминокислот, у животных с поврежденным гипоталамусом оказывает большее аноректогенное действие, чем в контроле.

Все эти реакции свидетельствуют о сложности процесса регуляции потребления пищи и подтверждают точку зрения Моргана (Morganc), согласно которой гипоталамическим структурам принадлежит ведущая роль в регуляции пищевого поведения, но и многие другие отделы мозга принимают участие в данном процессе. У экспериментальных животных после повреждения лобных или височных долей некоторые исследователи наблюдали

гиперфагию, тогда как другие — снижение потребления пищи. Аналогичным образом и после разрушения амигдалярного комплекса описана как гиперфагия, так и афагия. Ясно, что гипоталамические структуры, регулирующие потребление пищи,— это лишь наиболее изученная часть чрезвычайно сложного комплекса взаимосвязанных участков мозга, который функционирует как «аппестат». Некоторые последствия повреждений гипоталамуса могут определяться деструкцией проходящих через гипоталамус нервных волокон, а не самих клеточных тел, находящихся в гипоталамусе.

После выяснения роли вентромедиальных ядер гипоталамуса Ананд (Anand) и Бробек (Brobeck) обнаружили другие гипоталамические структуры, участвующие в регуляции пищевого поведения. Эти исследователи показали, что небольшие повреждения внешней стороны латеральной области гипоталамуса (локализованные в той же рострокаудальной области, что и вентромедиальные ядра) приводят к полному прекращению спонтанных приемов пищи. Некоторых из таких животных для сохранения жизни приходилось кормить через зонд. Другие все же проглатывали помещаемую в рот пищу. Это означает, что какие-то пищевые рефлексы у них сохранялись, хотя самостоятельно животные не начинали есть, даже когда пища была для них легко доступна. У животных, отличающихся гиперфагией, обусловленной повреждениями вентромедиальных ядер после повреждения латеральной области гипоталамуса развивалась афагия.

Морган (1961) предположил, что в латеральных областях гипоталамуса существуют раздельные системы «приема пищи» и «голодной мотивации»: стимуляция среднелатеральной области вызывает пищевые реакции у сытых животных, но они отказываются проходить через ударяющую слабым током площадку, чтобы нажать на педаль для получения пищи. Более латеральная стимуляция, однако, обусловливает как пищевое поведение, так и мотивацию к поиску пищи, даже в неблагоприятной ситуации. Последняя реакция зависит от целостности срединного пучка переднего мозга.

Тейтельбаум (Teitelbaum) подчеркнул тот факт, что большинство фундаментальных исследований по регуляции потребления пищи выполнено на крысах, у которых первичные потребности организма не контролируются высшими отделами головного мозга. Чтобы оценить истинную роль гипоталамических структур, участвующих в регуляции потребления пищи, необходимо проследить за последствиями их разрушения у животных с более развитым головным мозгом, таких, как собаки и обезьяны. Фонберг (Fonberg), например, наблюдал у собак с латеральным гипоталамическим синдромом не только афагию и адипсию (отсутствие чувства жажды), но и резкое изменение «личностных

свойств». Эти животные, обычно игривые, ласковые и любопытные, выглядели печальными, безразличными и даже подавленными. Важный вывод из таких исследований заключается в том, что гипоталамические структуры представляют собой не «центры», а лишь функциональные части сложных, локализованных в высших отделах головного мозга регуляторных систем, причем нарушения функций высших центров могут вызывать значительные изменения (в обоих направлениях) активности механизма, регулирующего потребление пищи. В то же время хорошо известно, что повреждения гипоталамуса могут приводить к выраженным поведенческим сдвигам.

Во многих экспериментах у ненаркотизированных животных стимулировали вентромедиальные и латеральные области гипоталамуса, а затем регистрировали влияние такой стимуляции на пищевое поведение. В целом результаты опытов были как бы зеркальным отражением данных, получаемых в опытах с повреждением этих областей. Например, стимуляция латерального гипоталамического центра повышала потребление пищи у животных некоторых видов, а также вызывала такие реакции, как лизание, жевание, глотание и слюнотечение. Стимуляция области вентромедиальных ядер приводила к небольшому уменьшению суточного потребления пищи.

На основании этих и других экспериментов была предложена рабочая гипотеза о роли отдельных областей гипоталамуса в регуляции потребления пищи. Вентромедиальные ядра служат передаточным (релейным) пунктом, объединяющим поток информации о насыщении. Разрушение этой области мешает восприятию сигналов насыщения, что ведет к перееданию и в конечном итоге к ожирению. В латеральной области гипоталамуса находится «облегчающий пищевой центр», который функционирует как интегрирующее звено всех сложных зрительных, слуховых, обонятельных, тактильных, вкусовых и энтероцептивных рефлексов, связанных с пищевым поведением. Последнее, как подчеркивает Бробек, далеко не ограничивается жевательным и глотательным рефлексами, но включает и поиск пищи, ее изучение и целый комплекс других реакций. Согласно «классической» теории, информация о насыщении поступает в вентромедиальную часть регуляторного механизма, а из вентромедиальных ядер исходят сигналы, тормозящие латеральные облегчающие пищевые центры (рис. 16-3). Необходимость прямой связи между медиальными и латеральными центрами была доказана в опытах на крысах, у которых с помощью тончайшего ножа перерезали ткань между медиальными и латеральными ядрами, практически не затрагивая их клеточные элементы; в результате у животных развивалось ожирение, как и при повреждении вентромедиальных ядер.

Гипотеза аппестата-баростата

Недавние исследования в области регуляции потребления пищи (например, Morrison) «низводят» роль гипоталамуса до чисто модуляторной. Предполагается, что экстрагипоталамические механизмы в большей мере определяют пищевое поведение, нежели гипоталамические. Например, общее истощение организма в результате опухолевого заболевания, связанное с уменьшением спонтанного потребления пищи, развивается независимо от гипоталамических механизмов. Другие авторы показали, что синдром, сходный с тем, который возникает после повреждения гипоталамуса, можно воспроизвести путем разрушения проходящих через гипоталамус волокон, особенно в латеральных областях. С помощью очень точно локализованных повреждений удается также разделить гиперфагию и «чрезмерную разборчивость» в пище.

Еще одно расхождение с классическими гипотезами возникло после того, как ряд исследователей (например, Keesey et al.) отметили, что у животных с повреждениями гипоталамуса, независимо от развития у них гиперфагии или гипофагии (т. е. по-

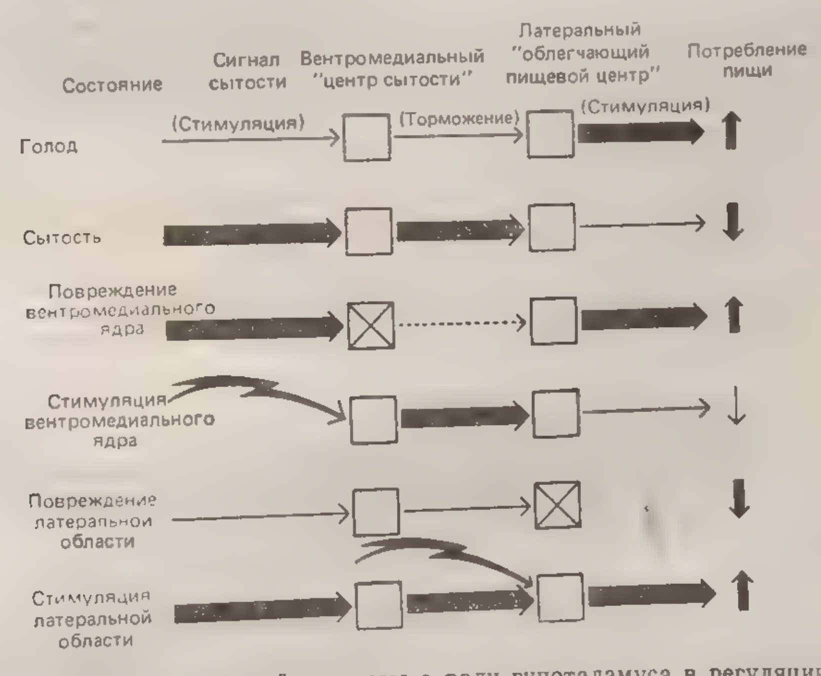


Рис. 16-3. Схема классической гипотезы о роли гипоталамуса в регуляции пищевого поведения. Из каждой пары симметричных структур гипоталамуса показана только одна. Толщина стрелок отражает интенсивность стимуляции или угнетения. (Фактические данные см. в обзоре Anand B. K. (1961). Physiol. Rev., 41, 677; данные, не укладывающиеся в схему, рассматриваются в обзоре Morrison, а также Mogenson.)

вреждением вентромедиальных ядер или латеральных областей), устанавливается новый уровень поддержания массы тела, выше или ниже существовавшего до операции. Это позволило сформулировать гипотезу установочной точки, или баростата, на основе липостатической теории регуляции потребления пищи (см. ниже). Согласно этой теории, регуляция количества потребляемой пищи связана с механизмом контроля запасов липидов в жировой ткани. Не ясно, регистрирует ли баростат постоянно меняющуюся физическую активность или же обусловленное этой активностью снижение запасов жира. На регулятор потребления пищи влияет физиологическое состояние голода, а также комплекс сенсорных сигналов, которые могут оказывать положительное действие, усиливая пищевое поведение (например, приятный вкус), или, напротив, подавлять соответствующие рефлексы (например, неприятный вкус, отвлекающая работа).

Хотя разработаны сложные компьютерные модели рассматриваемого механизма (см. Hirsh, в кн.: Reichsman), однако на рис. 16-4 связи между различными компонентами механизма поддержания энергетического баланса показаны в упрощенном виде. Многие детали этой схемы все еще остаются чисто умозрительными, в особенности природа связи между запасами триацилглицеролов и баростатом. Кстати, обнаружено, что состояние баростата в большей степени зависит от размеров жировых клеток, чем от их числа (см. ниже). Даже такая упрощенная модель (без указаний на анатомическую локализацию аппестата и баростата) дает представление о том, насколько сложным может быть поддержание установочной точки массы тела.

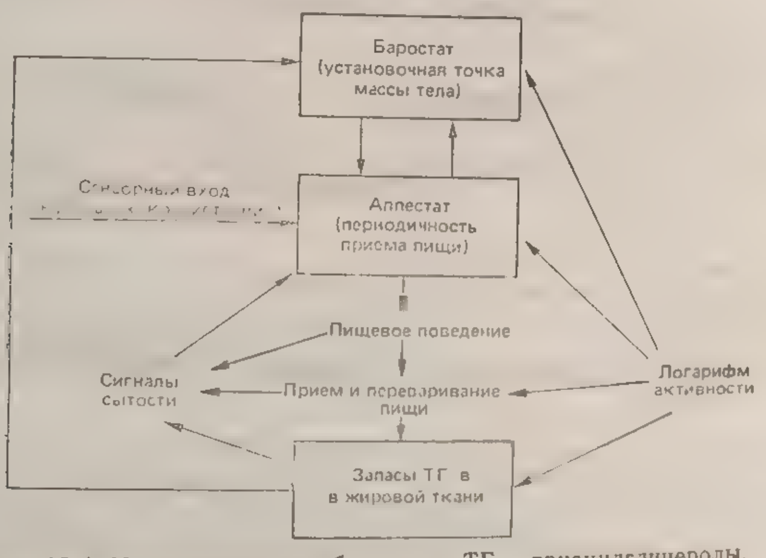


Рис. 16-4. Модель аппестата-баростата. ТГ — триацилглицеролы.

Является ли гипоталамическое ожирение чисто «регуляторным»?

Майер разделил ожирение на «регуляторное» (т. е. развивающееся в результате центральных нарушений регуляции потребления пищи) и «метаболическое» (т. е. обусловленное врожденными дефектами обмена веществ, которые могут проявляться и при нормальном функционировании механизмов регуляции). Недавние исследования указывают на то, что гипоталамическое ожирение, вызванное хирургическими повреждениями, может иметь метаболический компонент. У крыс с поврежденной вентромедиальной областью гипоталамуса постоянно обнаруживается гипертрофия островков Лангерганса и гиперинсулинизм (Han). В экспериментах на гипофизэктомированных животных, объединенных с контрольными по количеству скармливаемой пищи, показано (Han), что возникающий гиперинсулинизм не связан ни с увеличением потребления пищи, ни с нарушением функции гипофиза (которое могло быть обусловлено повреждением гипоталамуса). В сочетании с данными о роли ЦНС в модуляции высвобождения инсулина (гл. 14) наблюдения Хана о связи секреции инсулина с теми центральными структурами, которые участвуют в регуляции потребления пищи, показывают, что данная функция ЦНС имеет прямое отношение к процессам, происходящим после приема пищи.

То, что секреция инсулина находится под тоническим тормозным контролем со стороны ЦНС, было отчетливо продемонстрировано в опытах Рено (Renaud) на крысах: уже в первые 10 мин после повреждения вентромедиальной области гипоталамуса у животных наблюдалось резкое повышение концентрации инсулина в сыворотке крови в ответ на внутривенное введение глюкозы. При определении содержания инсулина, глюкагона и соматостатина в поджелудочной железе через 10 дней после нанесения повреждения Рено обнаружил, что концентрации этих гормонов у подопытных крыс выше, чем у контрольных, хотя первые были ограничены в пище и получали ее в том же количестве и по той же схеме, что и вторые. Таким образом, повреждение гипоталамуса, вызывающее ожирение, оказывает выраженный эффект, не опосредованный потреблением пищи, на функцию островковых клеток.

Более того, при разрушении β-клеток бета-цитотоксическим агентом повреждение вентромедиальной области гипоталамуса не вызывает ожирения. Показано, что и ваготомия (прерывающая нервную связь между гипоталамусом и эндокринной частью поджелудочной железы) предотвращает гиперфагию и препятствует развитию ожирения у животных с поврежденной вентромедиальной областью гипоталамуса (Powley, Opsahl).



Рис. 16-5. Ожирение у мыши, вызванное ауротиоглюкозой (АТГ).

Все эти наблюдения свидетельствуют о том, что ожирение, развивающееся в результате повреждения данной области, обусловлено очень сложным комплексом реакций, требующим сохранности связей между мозгом и островками Лангерганса.

Химические агенты и регуляция потребления пищи

Ауротиоглюкоза

Брехер и Ваклер (Brecher, Waxler, 1949) при рутинной проверке токсичности одного из возможных средств лечения артрита, а именно *ауротиоглюкозы* (АТГ, или золото-тиоглюкоза), обнаружили, что у определенного процента мышей, выживших после введения им LD_{50} этого вещества (т. е. той дозы, при которой погибает 50% животных), развивается очень сильное ожирение (рис. 16-5). При этом пищевое поведение мышей, получавших такие дозы АТГ, напоминало таковое у крыс с поврежденной вентромедиальной областью гипоталамуса. Майер с сотр. показали, что АТГ вызывает деструктивные изменения вентромедиальных ядер гипоталамуса и возникающее при этом ожирение представляет собой химически вызванное гипоталамическое ожирение. Хотя при введении АТГ наиболее отчетливо проявляются повреждения вентромедиальных ядер, тем не менее наблюдаются и другие небольшие повреждения, связь которых с регуляцией потребления пищи не установлена (Perry, Liebelt, 1961). При радиоавтографических исследованиях с применением АТГ, мечен-

ной ^{198}Au, в поврежденных участках мозга были обнаружены повышенные концентрации золота. Изучение распределения ^{198}Au и ^{35}S показало, что золото может отщепляться от исходной молекулы, и поэтому цитотоксичность АТГ в основном обусловлена действием тяжелого металла. Не исключено, что одна из причин повышенной чувствительности определенных клеток к АТГ — это присутствие в них высокоактивных ферментов, высвобождающих металлическое золото. Обзор данных о применении АТГ в экспериментальных исследованиях опубликован Детером и Либельтом (Deter, Liebelt) в 1964 г.

Нейромедиаторы и потребление пищи

Известны работы по идентификации нейромедиаторов, принимающих участие в регуляции потребления пищи. В одних исследованиях, например, использовали сочетание метода гистохимической флуоресценции, позволяющего выявить катехоламинергические проводящие пути мозга (Hillarp et al.), с введением веществ, разрушающих катехоламиновые системы. Это позволило сопоставить пищевое поведение с данными, получаемыми при аутопсии.

Другой подход состоял в том, что вводили следовые количества агонистов катехоламинов или блокирующих средств непосредственно в желудочки мозга и регистрировали их эффект на потребление пищи голодными или сытыми животными.

Большинство исследователей сходятся на том, что внутриче- репное введение *норадреналина* активирует пищевое поведение у сытых животных и, вероятно, этот эффект опосредуется α-адре- норецепторами. Такой вывод трудно согласовать с тем хорошо известным фактом, что симпатомиметические вещества группы амфетамина ингибируют потребление пищи (см. следующий раз- дел).

Результаты применения *дофамина* более противоречивы. В экспериментах с нейротоксином 6-OH-дофамином, избиратель- но разрушающим дофаминергические нейроны, было показано, что афагия при латеральном гипоталамическом синдроме связа- на с деструкцией дофаминергической системы регуляции питания (Ungerstedt). Однако имеются данные, что дофаминергические нейроны переднелатеральной области гипоталамуса *подавляют* пищевое поведение (Leibowitz). Клинические наблюдения, со- гласно которым применение дофамин-блокирующих средств часто сопровождается увеличением потребления пищи и массы тела, в какой-то степени согласуются с представлением о блокаде упо- мянутого ингибиторного влияния дофаминергических нейронов.

Еще более усложняют проблему данные Хобеля (Hoebel), который обнаружил, что введение в мозговые желудочки *n*-хлор-

фенилаланина, избирательно снижающего содержание серотонина, вызывает переедание и ожирение (см. также Stricker).

Фармакологические воздействия на механизмы регуляции потребления пищи могут влиять на интеграцию по меньшей мере: 1) крайне сложной сенсорной информации из окружающей среды; 2) сигналов, касающихся эндогенного метаболического статуса индивидуума; 3) поведенческих реакций, связанных с поисками пищи и ее потреблением; 4) ощущений голода (создавая своего рода приятное ощущение сытости). Сложность результирующих нервных взаимодействий даже трудно себе представить. Более того, всеобъемлющая теория центральной регуляции потребления пищи должна учитывать и роль присутствующих в мозге гормонов желудочно-кишечного тракта как вероятных модуляторов пищевого поведения. Например, Штраус и Ялоу (Straus, Yalow) обнаружили, что в мозге мышей с генетическим ожирением содержится *меньше* холецистокинина, чем у контрольных особей без ожирения.

Другой интересный аспект этой проблемы связан с ролью морфиноподобных пептидов (см. гл. 5). Хольтцман (Holtzman) показал, что введение здоровым крысам непосредственно перед кормлением антагониста морфина налоксона обусловливает потребление меньшего количества пищи, чем в контроле. Маргулес и др. (Margules et al.) обнаружили повышенное содержание β-эндорфина в крови и мозге грызунов, страдающих ожирением (см. Yim et al.).

С течением времени становится все труднее и труднее кратко излагать фармакологию пищевого поведения, которая основана главным образом на данных, полученных в экспериментах на животных (см. Morley, Levine, 1985). Наиболее явные *активаторы* пищевого поведения — это α-адреномиметические катехоламины и опиоидные пептиды. Список *ингибиторов* пищевого поведения, помимо β-адреномиметиков, серотонина и холецистокинина, включает КРФ, ТРГ, пептид, генетически родственный кальцитонину (гл. 17), и инсулин. Все эти вещества способны предсказуемым образом изменять пищевое поведение, но роль каждого из них в регуляции физиологических процессов еще предстоит выяснить.

Большинство ингибиторов потребления пищи относится к веществам, действующим на ЦНС. В настоящее время проходит испытание и ряд периферически действующих средств, снижающих аппетит (Sullivan, Gruen).

Симпатомиметические амины как аноректики

Некоторые вещества оказывают сильное влияние на потребление пищи. В клинике для помощи больным, не способным самостоятельно ограничить прием калорий, широко применяются

симпатомиметические амины и близкие к ним вещества. Эти лекарственные средства (прототипом которых служит амфетамин) являются мощными стимуляторами ЦНС и они, несомненно, в течение какого-то времени ускоряют потерю массы тела. Их эффект обусловлен снижением потребления пищи и повышением спонтанной физической активности. Механизм, посредством которого они снижают потребление пищи, не известен, но установлено, что данный «гипофагический» эффект не связан с вентромедиальными «центрами» сытости: мыши, у которых ожирение возникло в результате введения АТГ, и животные с поврежденными вентромедиальными ядрами гипоталамуса даже более чувствительны к аноректогенному действию амфетамина, чем контрольные особи.

Особый интерес представляет фенфлурамин, потому что в отличие от амфетамина он не является стимулятором центральной нервной системы. Это вещество широко используется в качестве аноректика, но его отмена может вызвать депрессию.

Как у экспериментальных животных, так и у человека аноректики эффективны в начале лечения, но через некоторое время к ним развивается толерантность и они становятся не эффективными. Большинство исследований, в которых доказывалась эффективность аноректиков у человека, выполнялись всего в течение нескольких недель. Практически важно, чтобы снижение массы тела сохранялось годами; однако сколько-нибудь убедительные доказательства столь длительного влияния аноректиков отсутствуют. Более того, в некоторых случаях применение аноректиков может помешать закреплению тех особенностей поведения, которые необходимы для устойчивого снижения массы тела. Из-за этого (наряду с возможностью привыкания) симпатомиметические амины и близкие к ним вещества не имеют перспективы широкого применения в клинике.

Сигналы сытости

Выше мы рассмотрели некоторые структуры ЦНС, связанные с обработкой информации о количестве потребляемой пищи. Целесообразно проанализировать и вероятную природу сигналов, возникающих при усвоении пищи, а также вопрос о том, каким образом эти сигналы участвуют (и участвуют ли) в долговременной регуляции энергетического баланса. Судя по обширным, но противоречивым литературным данным, большинство специалистов в этой области считают, что регуляция потребления пищи со стороны ЦНС представляет собой результат обработки разнообразных сведений. Среди многих гипотез остановимся лишь на некоторых.

Оценка объема потребляемой пищи в ротовой полости, глотке и желудочно-кишечном тракте

Наличие или отсутствие обусловленных голодом сокращений желудка, по-видимому, не влияет на количество потребляемой пищи; однако Яновитц и Гроссман (Janowitz, Grossman) показали, что предварительно накормленные собаки съедают меньше, чем животные, получавшие то же количество пищи через желудочную фистулу, и предположили, что сигнал сытости может формироваться растяжением желудка.

Регуляторные процессы зависят и от вкуса пищи: так, сладкие вещества и напитки вызывают у животных ожирение, несмотря на компенсаторное уменьшение потребления других компонентов пищи.

Гормоны, регулирующие двигательную активность желудочно-кишечного тракта и соответствующие секреторные процессы, влияют на скорость его опустошения и тем самым на пищевое поведение. В регуляции потребления пищи принимает участие и глюкагон: он уменьшает как объем, так и длительность приема пищи (Geary et al.).

Рецепторы гепатоцитов

Имеются нейрофизиологические данные о существовании рецепторов глюкозы в гепатоцитах (см. Niijima). Однако каким образом соответствующая информация используется (и используется ли) в регуляции потребления пищи, до сих пор неизвестно.

Термостатическая регуляция

Бробек и сотрудники выдвинули интересное предположение, согласно которому в ЦНС регистрируется количество тепла, которое выделяется в процессе усвоения пищи. Эта теплопродукция (названная специфическим динамическим действием) и выполняет роль одного из сигналов насыщения. Данная гипотеза привлекательна тем, что рассматривает основные пищевые вещества — белки, жиры и углеводы — как потенциальные сигнализаторы насыщения.

Метаболические теории

Высказано предположение (Mayer), что клетки, локализованные в области вентромедиальных ядер гипоталамуса, представляют собой хеморецепторы («глюкостаты»). Способность этих клеток реагировать на скорость утилизации глюкозы перифери-

ческими тканями подтверждена многочисленными косвенными данными; при уменьшении артерио-венозной разницы по глюкозе в периферической крови (т. е. при малом потреблении глюкозы в тканях) возникает чувство голода. Напротив, при высокой периферической артерио-венозной разнице по глюкозе (т. е. при большой скорости утилизации глюкозы) наступает субъективное ощущение сытости. Позднее глюкостатическая теория получила поддержку в работах Ананда и др. (Anand et al.), изучавших на обезьянах и кошках электрическую активность медиальных и латеральных пищевых центров: изменяя концентрацию глюкозы в крови внутривенным введением глюкозы либо инъекциями инсулина, эти авторы обнаружили, что электрическая активность «центров» насыщения повышается при возрастании концентрации глюкозы в крови, но не при введении гидролизата белка или эмульсии жира. Кроме того, связывание АТГ с клетками вентромедиальных ядер можно считать косвенным доказательством существования здесь рецепторов глюкозы.

При всей очевидной привлекательности глюкостатической гипотезы существуют две причины, позволяющие усомниться в ее справедливости: во-первых, показано, что предварительное вливание глюкозы практически не уменьшает спонтанного потребления пищи ни у крыс, ни у собак, ни у человека (Janowitz, Grossman); во-вторых, обнаружены циклы голода и сытости у людей, находящихся на богатой жирами и бедной углеводами диете, при отсутствии колебания артерио-венозной разницы по глюкозе (Van Itallie). При этом установлено, что чувство голода наиболее четко коррелирует с повышением концентрации свободных жирных кислот (СЖК) в крови, свидетельствующем о мобилизации жировых депо.

Вариантом описанной выше гипотезы можно считать «липостатическую» теорию, согласно которой существует коммуникативная связь (через кровоток) между суммарными запасами жиров и регуляторными структурами ЦНС (Kennedy et al.). Основные посылки таковы: количество жиров, мобилизуемых за сутки, можно считать примерно пропорциональным общему их количеству во всех депо; следовательно, если бы при мобилизации жиров одновременно с СЖК высвобождался какой-то сигнальный метаболит, то мозг мог бы получать текущую информацию относительно общего запаса жиров в организме. Большое преимущество этой теории заключается в том, что она позволяет понять, каким образом осуществляется долговременная регуляция энергетического обмена. В отличие от этого механизма в срочной, осуществляемой после каждого приема пищи регуляции, участвуют, вероятно, локальные «измеряющие» механизмы желудочно-кишечного тракта, а также колебания теплопродукции и концентрации глюкозы в крови после еды.

Как избыток белка, так и несбалансированные смеси аминокислот вызывают анорексию. Механизм процесса точно не известен, но во всяком случае его реализация не зависит от вентромедиальных ядер (Krauss, Mayer, 1965). Анорексия часто возникает и при заболеваниях печени (например, гепатите), но механизм этого явления тоже не известен. Не исключено, что указанные две причины анорексии взаимосвязаны: в пораженной печени снижается скорость превращения аминокислот, и они могут накапливаться в жидкостях организма в аноректогенных количествах.

В заключение следует сказать, что регуляция потребления пищи — это такой же ритмический, колебательный физиологический процесс, как дыхание, поддержание водного баланса, сон и бодрствование и многие другие. Быстрая регуляция (от одного приема пищи к другому) может осуществляться с помощью набора сигналов, включая специфическое динамическое действие поглощенной пищи, скорость утилизации глюкозы, метаболические процессы в жировой ткани и действие локальных «измерителей» в желудочно-кишечном тракте. Информация, передаваемая с помощью этих сигналов, обрабатывается адренергическими, серотонинергическими и пептидергическими (включая эндогенные опиоиды) нейронами.

Долговременный баланс может поддерживаться с помощью существующих в ЦНС механизмов интеграции и анализа многих из этих процессов, причем в этих механизмах используется нечто вроде логарифма суммарной работы; об этом свидетельствуют наблюдения о запаздывающем влиянии тяжелой работы на потребление пищи человеком.

Жировая ткань

Роль жировой ткани в обмене веществ

Первая обзорная статья, посвященная жировой ткани, была опубликована в 1948 г. Вертхеймером и Шапиро (Wertheimer, Shapiro), чья интуиция на десятилетия предвосхитила современный подход к проблеме. Авторы писали следующее:

> «Жировая ткань — это особая ткань, состоящая из специализированных клеток. Она снабжена относительно плотной капиллярной сетью и иннервируется симпатическими нервными волокнами. Отложение и мобилизация жира в жировой ткани представляют собой активные процессы, которые зависят от тканевого метаболизма. В условиях, способствующих отложению жира, жировая ткань накапливает гликоген, который, по-видимому, образуется в самих клетках. В этой ткани непрерывно происходит синтез новых жирных кислот из углеводов, равно как и превращение одних жирных кислот в другие. Все перечисленные реакции регулируются нервными и эндокринными факторами».

Жиры и жировая ткань столь тесно связаны с проблемами ожирения, что их, к сожалению, рассматривают как нечто патологическое. На самом же деле жировая ткань «выгодна» организму, поскольку без нее ему пришлось бы приспосабливать скорость всасывания пищи из желудочно-кишечного тракта к постоянно меняющейся скорости энергетических затрат. Более того, в таких условиях оказалось бы невозможным даже непродолжительное голодание, поскольку общие запасы углеводов в тканях и биологических жидкостях у человека (взрослого мужчины) редко превышают 75 г, или 300 калорий, что эквивалентно небольшому кусочку пирога. Запасание после еды жиров и углеводов в жировой ткани придает организму способность «демпфировать» колебания как скорости метаболизма, так и поступления пищи из окружающей среды; безусловно, это должно было давать нашим эволюционно отдаленным предкам одно из преимуществ в борьбе за существование. Таким образом, жировая ткань — это своеобразный энергетический банк; вклады в него поступают во время еды, а выдачи (в форме сигналов мобилизации жира) могут производиться в любое последующее время. Поэтому жировые депо чрезвычайно важны для повседневного поддержания энергетического баланса. Если в течение продолжительного времени вклады превышают расходы, то развивается ожирение. Степень отложения жира может быть невероятно велика: жировые депо почти неограниченно растяжимы. Например, у крыс с гипоталамическим ожирением количество жира может достигать 50% массы тела, т. е. 250 г (2150 калорий). При энергозатратах, составляющих 50 калорий в сутки, этого должно хватать на 43 дня. Ожирение подобной степени может наблюдаться и у человека.

Регуляция запасания и мобилизации жиров в адипоцитах

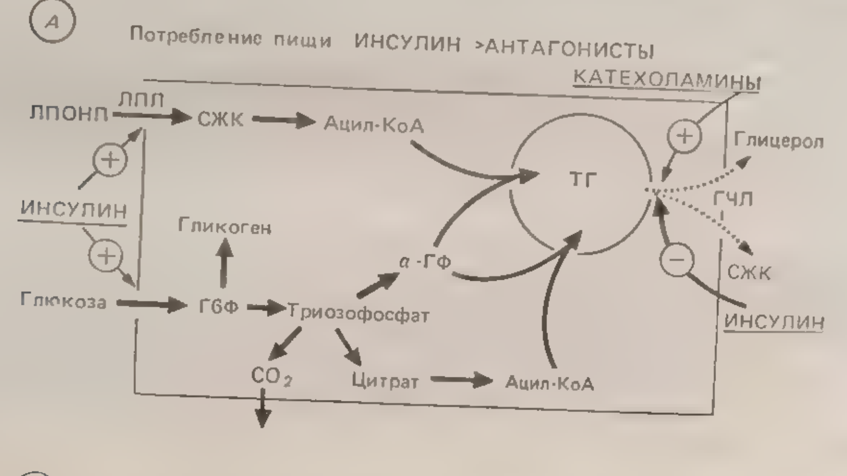
Жировая клетка подвергается регуляции антагонистическими гормонами (см. гл. 14).

На рис. 16-6, *А* показано состояние адипоцита в условиях избытка инсулина. При этом активируется липопротеинлипаза (*ЛПЛ*) и возрастает поглощение СЖК из *ЛПОНП*, содержащихся в крови; стимулируется транспорт глюкозы и ускоряется гликогенез; возрастает превращение глюкозо-6-фосфата по всем метаболическим путям: окисление в CO_2, синтез жирных кислот и (на рисунке не показано) окисление по пентозофосфатному пути, который поставляет восстановительные эквиваленты (используемые в липогенезе) в форме НАДФ·Н. Образуется большое количество α-глицеролфосфата, необходимого для синтеза триацилглицеролов, в котором используются жирные кислоты,

как поступающие из *ЛПОНП*, так и новообразующиеся в клетке. Одновременно с запасанием триацилглицеролов их гидролиз гормон-чувствительной липазой *сильно ингибируется* инсулином. В результате происходит накопление этих веществ в адипоците.

На рис. 16-6, *Б* схематически отражено состояние жировой клетки при избытке антагонистов инсулина или недостаточности последнего. Все реакции, обычно стимулируемые инсулином, протекают с низкой скоростью, а антилиполитический эффект инсулина исчезает. Гормон-чувствительная липаза — субстрат цАМФ-зависимой протеинкиназы — переходит в фосфорилированную, т. е. активную форму. В результате запасание триацилглицеролов резко тормозится, а их гидролиз ускоряется.

Известны многочисленные, но противоречивые данные о роли цАМФ в этих процессах. Например, катехоламины повышают



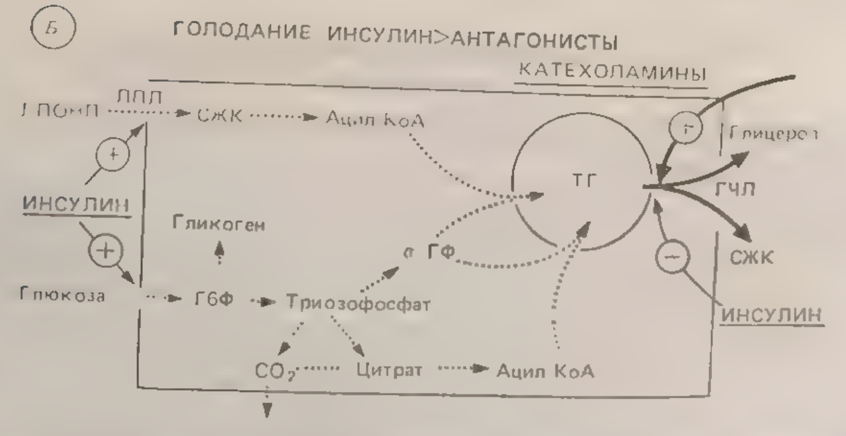


Рис. 16-6. Активность адипоцита в процессе еды (*А*) и при голодании (*Б*). ГЧЛ — гормон-чувствительная липаза, ЛПЛ — липопротеинлипаза, ТГ — триацилглицеролы, α-ГФ — α-глицерофосфат, Г6Ф — глюкозо-6-фосфат, СЖК — свободные жирные кислоты, ЛПОНП — липопротеины очень низкой плотности.

уровень цАМФ, а инсулин снижает его; однако биологические эффекты могут наблюдаться и в том случае, когда изменение концентрации цАМФ не удается зарегистрировать. Это не исключает роли цАМФ-зависимой протеинкиназной системы на этапах, уже не связанных с синтезом цАМФ. Подробности молекулярных механизмов антилиполитического действия инсулина и липолитического катехоламинов еще предстоит выяснить (роль кальция? роль ингибиторов протеинкиназы и активаторов фосфодиэстеразы?), но уже сейчас можно оценить координированность возникающих изменений и их физиологическое значение.

При этом необходимо обратить внимание на ингибирование эффектов инсулина самим процессом липолиза. СЖК, образующиеся при гидролизе триацилглицеролов, являются мощными ингибиторами фермента липогенеза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, а также синтеза и транспорта цитрата в митохондриях. В результате происходит торможение тех процессов метаболизма (липогенез, превращение глюкозо-6-фосфата), которые активирует инсулин, и таким образом клетка приобретает инсулинорезистентность.

Размеры и количество адипоцитов: классификация ожирения

В области изучения энергетического баланса интересны работы Хирша и др. (см. Stern, Johnson). Исследователи показали, что перекармливание новорожденных крысят (четыре крысенка на мать по сравнению с 22 в контроле) приводит к увеличению у них количества адипоцитов по сравнению с контролем. Это повышенное количество жировых клеток сохраняется в течение всей последующей жизни таких «привилегированных» животных.

При исследовании на человеке оказалось, что у тучных младенцев и детей как размеры, так и количество адипоцитов обычно увеличены. Симс, Хортон и др. (Sims, Horton et al.) при обследовании взрослых людей, потребляющих избыточное количество пищи в экспериментальных условиях, обнаружили увеличение только размеров адипоцитов, но не их общего количества. Выявлено два периода на протяжении жизни человека, когда происходит пролиферация жировых клеток: 1) в младенчестве и 2) в период бурного роста в отрочестве (Knittle). Все же изменения жировых клеток не ограничиваются этими двумя периодами. Общепризнано, что снижение массы тела приводит к уменьшению размеров жировых клеток без существенного снижения их количества.

Методы, использованные в описанных выше экспериментах, позволяли идентифицировать в качестве жировых клеток только те адипоциты, которые содержали достаточное для флотации ко-

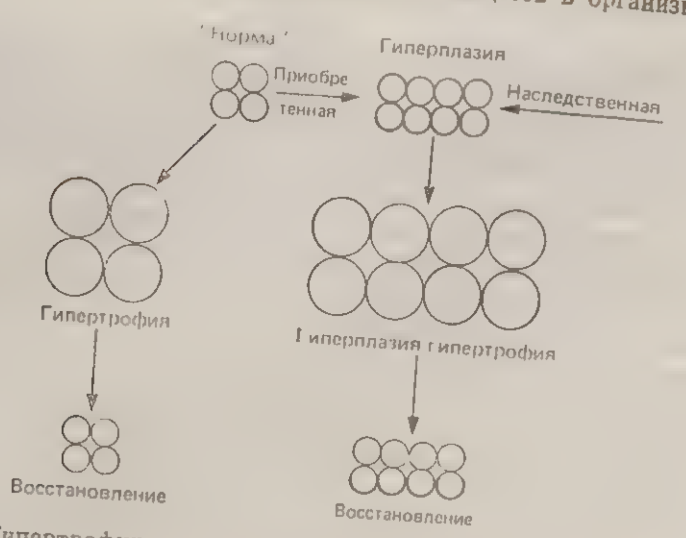


Рис. 16-7. Гипертрофическое и гиперпластическо-гипертрофическое ожирение.

личество триацилглицеролов. При этом не выявлялись ни клетки-предшественники адипоцитов, ни делящиеся адипоциты, которые могли еще просто не успеть запасти количество триацилглице-ролов, достаточное для определения. Необходимо было разрабо-тать способ, позволяющий дифференцировать делящиеся и пред-существующие жировые клетки. Этого удалось достичь путем ре-гистрации скорости включения радиоактивного тимидина в ДНК при различных условиях эксперимента. Таким методом удалось подтвердить ранее полученные данные, касающиеся увеличения количества жировых клеток: оно совпадало с периодами увели-чения синтеза ДНК.

Многие наблюдения на людях показали целесообразность классификации ожирения, основанной на размерах и количестве адипоцитов. При увеличении размеров адипоцитов говорят о *гипертрофическом* ожирении, тогда как при повышении общего числа этих клеток — о *гиперпластическом* (рис. 16-7). В действительности же адипоциты у большинства людей с выраженным ожирением и гипертрофированы и гиперплазированы одновременно.

Все это означает, что на определенных стадиях своего жизненного цикла под влиянием митогенов жировые клетки (или их непосредственные предшественники) начинают делиться. В то же время на других этапах своего жизненного цикла адипоциты не делятся. Несмотря на то что специфические стимуляторы или ингибиторы их деления пока не идентифицированы, не исключена возможность генетической предрасположенности к ожирению; так, крысы линии Цуккер (удобная экспериментальная модель генетического ожирения) характеризуются выраженной гиперплазией адипоцитов.

Представление о том, что количество адипоцитов у крыс «закладывается» в неонатальном периоде, в настоящее время подвергается сомнению. Путем замены обычной лабораторной диеты на очень привлекательную для крыс диету с высоким содержанием жиров удалось добиться повышения общего количества адипоцитов и у взрослых животных ряда линий. При этом у крыс, содержащихся на такой диете, в первую очередь отмечалось выраженное увеличение размеров адипоцитов, а уже затем — и количества клеток. Последующий перевод крыс на прежнюю диету уже не снижал количества жировых клеток. Любопытно, что у тучных крыс линии Цуккер (с предсуществующей гиперплазией жировой ткани) практически не увеличивается масса тела при содержании их на обогащенной жирами диете (см. Faust et al.).

Оказывает ли перекармливание новорожденных свой долговременный эффект целиком за счет увеличения количества адипоцитов или повышения потребления пищи и имеется ли в действительности какая-либо связь между пролиферацией адипоцитов и перееданием — до сих пор неизвестно. По крайней мере новые данные о том, что перекармливание новорожденных ведет к закреплению чувства голода на более высоком, чем в норме, уровне (см. Oscai, McGarr), указывают на возможность такого же импринтинга (запечатления) в неонатальных механизмах головного мозга, регулирующих объем пищи, какой существует в механизмах регуляции гонадотропной и других гипофизарных функций.

Влияние увеличения размеров адипоцита на его метаболизм

По мере увеличения размеров жировых клеток они становятся резистентными к инсулину (см. Czech). Одновременно в них (а также в гепатоцитах, миоцитах, а у человека и в моноцитах крови) уменьшается приходящееся на каждую клетку число рецепторов инсулина (см. Soll et al.). При снижении массы тела в результате ограниченного потребления пищи жировые клетки вновь приобретают чувствительность к инсулину, и число рецепторов инсулина во всех тканях возрастает. Таким образом, инсулин способствует запасанию жира в адипоцитах, но чем больше запасы он «создает», тем труднее становится ему увеличивать эти запасы. С телеологических позиций это весьма полезно, так как предотвращает дальнейшее ожирение и тем самым помогает баростату поддерживать регулируемый уровень массы тела.

С другой стороны, в условиях восстановленной чувствительности к инсулину (при снижении массы тела) замедляется мобилизация жирных кислот из триацилглицеролов. Таким образом,

если чувствительность к инсулину сильно возрастает в условиях еще сохраняющегося ожирения, то дальнейшее снижение массы тела оказывается достаточно проблематичным.

Установлено, что инсулинорезистентность увеличенных в размерах адипоцитов не может объясняться только потерей рецепторов инсулина; в таких клетках отмечены и изменения метаболических процессов. Поскольку у животных и людей, страдающих ожирением, в состоянии покоя регистрируется повышенный уровень СЖК в крови, можно предположить, что в цитозоле жировых клеток не только увеличены размеры капель триацилглицеролов, но и повышена концентрация СЖК или ацил-КоА. Это в свою очередь ведет к ингибированию липогенеза и ферментов гексозомонофосфатного пути. Следовательно, снижение количества рецепторов инсулина и инсулинорезистентность могут быть вторичными феноменами по отношению к изменениям, возникающим в увеличенных клетках (см. DiGirolamo et al.; Salans, Cushman).

Бурая жировая ткань (БЖТ)

Бурую жировую ткань, состоящую из высокоспециализированных адипоцитов, изучали главным образом у грызунов и у некоторых видов животных, впадающих в зимнюю спячку. Эта ткань обнаруживается у новорожденных младенцев, но ее физиологическая роль у взрослых людей сомнительна. Биология БЖТ — единственной ткани, основная функция которой заключается в продукции тепла,— изучалась многими исследователями и нередко — весьма изобретательным образом (см. Himms-Hagen; Ricquier, Mory).

БЖТ играет важную роль в трех случаях: 1) у новорожденных младенцев; 2) при адаптации к холоду и 3) при пробуждении от спячки у некоторых видов животных. Пункты (1) и (2) на самом деле могут отражать одну и ту же ситуацию, поскольку переход от внутриутробной жизни к внеутробной обычно сопровождается охлаждением.

Бурые адипоциты отличаются от белых тем, что содержат много мелких липидных капель (вместо одной большой), диспергированных по всей клетке; они особенно богаты своеобразными митохондриями и обильно снабжены окончаниями симпатических нервов и кровеносными сосудами.

БЖТ иннервируется симпатическими волокнами, выходящими из двух областей гипоталамуса: 1) преоптической области, участвующей в теплорегуляции и 2) вентромедиальных ядер, которые, как уже отмечалось, связаны с регуляцией потребления пищи. Поэтому БЖТ получает стимулирующие сигналы при охлаждении, которое активирует преоптическую область гипоталаму-

са, и при кормлении, эффект которого опосредуется вентромедиальными ядрами. В обоих случаях произойдет выброс норадреналина вблизи клеток БЖТ и активация в них липолиза через β_1-рецепторы.

Отличительная биохимическая особенность клеток БЖТ, придающая им свойства «микрообогревателей», заключается в том, что на внутренней митохондриальной мембране этих клеток локализован специфический белок (32 K), называемый *термогенином*. При поступлении в митохондрии субстратов окисления (продуктов липолиза или метаболизма углеводов, активированного инсулином) *термогенин* разобщает окислительное фосфорилирование, и энергия окисления расходуется больше на выработку тепла, чем на синтез АТФ. У грызунов стимуляции БЖТ при охлаждении может определять 30—80% общего недрожательного термогенеза. У новорожденных младенцев БЖТ служит той же цели, но количественный вклад БЖТ в общую теплопродукцию оценить в этом случае довольно трудно.

БЖТ функционально связана с эндокринной системой. *Гипертиреоз* вызывает атрофию БЖТ путем стимуляции общего термогенеза. *Гипо*тиреоз, снижая теплопродукцию, приводит к гипертрофии БЖТ, но гипертрофированная ткань хуже реагирует на норадреналин и потому в условиях охлаждения выделяет недостаточное количество тепла. В этом, несомненно, и заключается причина нарушения толерантности к холоду у гипотиреоидных грызунов и других животных, которые поддерживают термогенез на холоду за счет БЖТ.

Можно предположить, что некоторые счастливчики, способные потреблять очень большие количества пищи и при этом не толстеть, сохраняют в своем худом теле какие-то скрытые запасы БЖТ. Однако следует подчеркнуть, что патофизиологическая роль БЖТ у взрослого человека установлена только в случае развития опухолей, продуцирующих катехоламины (феохромоцитома). У таких больных обнаружена пролиферация БЖТ, что может в какой-то степени определять потерю массы тела. При этом высокий уровень катехоламинов стимулирует термогенез и в других тканях.

Метаболическая «цена жизни»

Эффективность утилизации пищи

В течение многих лет исследователи энергетического баланса молчаливо исходили из того, что общая эффективность утилизации пищи у всех особей совершенно одинакова. Однако эксперименты на линейных животных опровергли эту точку зрения. Позднее выяснилось, что метаболическая «цена жизни», т. е. рас-

ход энергии в процессе обмена веществ в организме, варьирует от особи к особи и поэтому в определенной степени определяет тучность или худобу. Более того, «цена жизни» — величина непостоянная, поскольку тесно сопряжена с потреблением пищи, как разовым (эффект одного приема пищи), так и постоянным (адаптация к перееданию, недоеданию или голоданию).

Основной обмен, регистрируемый по потреблению кислорода в покое натощак после сна, отражает минимальные индивидуальные энергозатраты в состоянии бодрствования. В процессе еды расход энергии на обработку поступающих веществ вызывает повышенное потребление кислорода (этот эффект называют специфическим динамическим действием пищевых продуктов). Не считая энергозатрат на функционирование желудочно-кишечного тракта и системы кровообращения, цена превращения углеводов в жиры составляет 11—20% калорий, содержащихся в потребляемых углеводах. Цена превращения аминокислот в белок — около 20%. На глюконеогенез из аминокислот расходуется примерно 30% энергии, содержащейся в аминокислотах. Обычно подчеркивают высокую цену превращения аминокислот, но цена превращения углеводов также довольно высока. Имеются некоторые экспериментальные данные, указывающие на более высокую эффективность (т. е. меньшую энергетическую цену) утилизации потребляемого жира по сравнению с изокалорическим количеством углеводов.

Хотя неоднократно предпринимались попытки выявить различия в специфическом динамическом действии пищи у тучных и худых людей или животных, до сих пор не доказано, что при ожирении оно снижено, что могло бы способствовать дополнительному запасанию «лишней» энергии в виде триацилглицеролов. Тем не менее легко представить себе, что даже минимальные различия в термогенезе, вызванном приемом пищи, суммируясь за длительное время, могут иметь определенное значение.

Для объяснения возможных различий в эффективности метаболизма, которые могли бы служить причиной ожирения или худобы, предложено много теорий. Более эффективный (т. е. энергетически менее расточительный) тип обмена веществ мог бы предрасполагать к ожирению, тогда как менее эффективный — способствовать стабилизации массы тела при малой физической активности. Например, в качестве возможного фактора, определяющего различия в энергетической эффективности, называлась генетически детерминированная разница в функционировании так называемых «бесполезных циклов» (см. Stirling, Stock). Бесполезные циклы состоят из пары метаболитов, связанных двумя ферментами, каждый из которых действует, как правило, в одном направлении:

$$\text{Глюкоза} \rightleftarrows \text{Глюкозо-6-фосфат},$$

Фруктозо-6-фосфат ⇄ Фруктозо-1,6-бисфосфат,
Триацилглицерол ⇄ Ацил-КоА.

Направление потока субстратов зависит от алгебраической суммы противоположных реакций; когда пара субстратов превращается друг в друга с одинаковой скоростью, расходуется АТФ и энергия не может запасаться в той или иной форме. Хотя прямые доказательства различий в функционировании бесполезных циклов между предрасположенными и не предрасположенными к ожирению животными или людьми отсутствуют, все же нельзя исключить, что химическая индивидуальность такого рода может сказываться на энергетической эффективности обмена веществ.

Другие *возможные* метаболические различия между тучными и худыми особями касаются степени сопряжения окислительного фосфорилирования и соотношения аэробного и анаэробного обмена. По крайней мере вероятно (хотя и не доказано), что у склонных к ожирению особей более прочное сопряжение окислительного фосфорилирования в митохондриях обеспечивает более эффективный с энергетической точки зрения тип метаболизма, тогда как слабое сопряжение позволяло бы потреблять большое количество пищи без прибавления массы тела. Подобно этому, анаэробный обмен менее эффективен (по выходу АТФ на моль глюкозы), чем аэробный. Нет никаких оснований утверждать, что у всех людей во всем мире соотношение аэробного и анаэробного обмена одинаково.

Установлено, что при переедании в экспериментальных условиях количество запасаемых жиров не соответствует вычисленному избытку потребленной энергии (см. Sims; Miller et al.). Действительно, экспериментальное перекармливание испытуемых не приводит к увеличению массы их тела. Этот феномен, впервые описанный более 80 лет назад, получил название «избыточное потребление» (luxus consumption); он свидетельствует о том, что в ответ на переедание происходит адаптивное усиление вызываемого пищей термогенеза, и такая адаптация является одним из способов защиты организмом регулируемого уровня массы тела. Наиболее впечатляющий результат современных исследований по «избыточному потреблению» заключается в том, что обнаружены резкие индивидуальные различия в прибавке массы тела у разных людей при одной и той же степени переедания.

Симпатическая нервная система играет важнейшую роль в термогенезе как у животных, эффективно адаптирующихся к холоду, так и у других видов, включая человека, у которых активность симпатической нервной системы зависит, по крайней мере отчасти, от потребления пищи (Landsberg, Young). Подавление активности симпатических нервов натощак и стимуляция их при переедании могли бы служить одним из механизмов «избыточно-

го потребления». Кстати, этот эффект переедания может играть роль в патогенезе гипертонии при ожирении.

Если в экспериментальных условиях человека или животных *ограничивать в пище*, то можно наблюдать общее уменьшение энергозатрат, что сохраняет запасы энергии. У людей средней массы тела такая реакция вполне оправданна. Однако у лиц, страдающих ожирением, она может возникать еще на фоне значительного избытка массы и тем самым препятствовать дальнейшему ее снижению. Не исключено, что в таких адаптивных реакциях принимает участие симпатическая нервная система.

Теплообмен и энергетический баланс

Теплокровные животные способны поддерживать постоянную температуру тела. Их терморегуляция осуществляется путем включения механизмов теплопродукции и сохранения тепла, если окружающая температура начинает падать, и механизмов теплоотдачи, если окружающая температура растет. В процессе терморегуляции различают определенную последовательность реакций: 1) острые рефлекторные реакции (например, расширение или сужение сосудов, дрожание, одышка, потоотделение) и 2) более длительные адаптивные изменения (например, гипертрофия щитовидной железы, увеличение потребления пищи, изменения в периферических жировых депо при воздействии холода). Проблемы терморегуляции и энергетического баланса имеют тесную связь, и именно этот факт позволил Бробеку сформулировать гипотезу о термостатической регуляции потребления пищи. В экспериментах по определению энергетического баланса (у крыс в широком диапазоне температур окружающей среды регистрировали потребление пищи, спонтанную активность и массу тела) Бробек установил, что высокая температура среды приводит к уменьшению потребления пищи и двигательной активности, тогда как низкая — к гиперфагии и повышенной активности. Конечно, животные на холоду должны были «есть, чтобы согреться» (выражение Бробека), поскольку без увеличения потребления пищи их энергетический баланс быстро стал бы отрицательным из-за необходимости «топить печь» теплопродукции собственными веществами.

Ни одна система преобразования энергии, будь то паровая или дизельная машина или человеческий организм, не работает со 100%-ной эффективностью. На самом деле человеческий организм занимает промежуточное положение между упомянутыми двумя машинами (его эффективность составляет 25% по сравнению с 15 и 35% двух других). Приведенные цифры нельзя считать постоянными, поскольку эффективность любой машины зависит от режима ее работы. У человека, например, как при очень

низкой, так и при очень высокой скорости работы эффективность снижается, т. е. имеет форму параболы. Кроме того, эффективность преобразования энергии в организме человека частично зависит от тренированности и навыков.

Функция щитовидной железы и ожирение: новые направления

О связи ожирения с функционированием щитовидной железы существуют многочисленные и противоречивые данные (см. Garrow). Поскольку у людей, страдающих ожирением, концентрация тироксина в сыворотке крови не отличается от нормы, роль тиреоидных гормонов в патогенезе ожирения ставится под сомнение. Однако некоторые данные указывают на целесообразность пересмотра такой точки зрения.

У животных тиреоидные гормоны необходимы для адаптации к холоду и вносят реальный вклад в недрожательный термогенез, возникающий при охлаждении. Можно провести аналогию между этим видом термогенеза и термогенезом при гиперфагии, связанным с приемом пищи. Действительно, Данфорт и др. (Danforth et al.) сообщили о повышении концентрации T_3 и снижении rT_3 в сыворотке крови в условиях экспериментального перекармливания. Снижение массы тела у тучных особей тоже сопровождается изменением концентрации тиреоидных гормонов, на этот раз — в противоположном направлении: уменьшением концентрации T_3 и повышением rT_3 (очевидно, эти изменения обусловлены периферическим деиодированием T_4). При этом концентрация T_4 в крови остается постоянной. Таким образом, изменения концентрации T_3 в крови направлены на поддержание регулируемого уровня массы тела.

Имеются и другие данные, подтверждающие роль щитовидной железы в поддержании энергетического баланса. Например, равновесный уровень флавинового митохондриального фермента α-ГФД (α-глицеролфосфатдегидрогеназы) определяется тиреоидными гормонами. Значение этого фермента для энергетического баланса может быть обусловлено следующими различными его эффектами: 1) быстрый метаболизм α-глицеролфосфата (α-ГФ) обусловливает меньшую его доступность для процесса этерификации жирных кислот (синтеза триацилглицеролов); 2) при высоком уровне α-ГФД снижается отношение P:O (сопряжение окисления и фосфорилирования), что увеличивает пищевой термогенез; и наоборот, при низком уровне α-ГФД пищевой термогенез должен был бы снижаться, что сохраняло бы больше энергии для запасания. В этой связи важно, что у животных при ожирении наблюдается *низкий* уровень α-ГФД (Galton, Bray). В данном случае не известно, является ли снижение активности фермента причиной или следствием ожирения.

Данные Эдельмана и сотр. (см. гл. 10) о том, что 1) от 35 до 50% основного обмена может определяться осмотической работой по «откачке» Na^+ из клеток и 2) тиреоидные гормоны регулируют степень активности Na^+,K^+-АТФазы,— позволили предположить, что предрасположенность к ожирению или его сохранению зависит от активности этой АТФазы. Действительно, было показано, что у мышей с генетическим ожирением (линия ob/ob) снижена активность Na^+,K^+-АТФазы в печени и почках (York et al.) и уменьшено число молекул фермента в клеточных мембранах (Lin et al.). Далее удалось обнаружить (Guernsey, Moroshige), что в клетках печени и легких этих животных снижено количество ядерных участков связывания T_3. Это особенно интересно в связи с тем, что мыши этой линии не способны повышать термогенез при воздействии холода. Таким образом, несмотря на нормальный уровень тиреоидных гормонов в крови, у них снижена реакция органов-мишеней на тиреоидные гормоны; вероятно, этим объясняется: 1) низкое потребление такими животными кислорода в покое, 2) их явно «сверхэффективный» тип обмена и 3) недостаточная способность адаптироваться к холоду.

Физическая активность

На долю скелетных мышц приходится около 50% массы тела. Они способны изменять свои энергетические потребности в 20 и более раз. При физической нагрузке у человека возрастает функциональная активность не только скелетных мышц, но и сердца и дыхательной мускулатуры, что обеспечивает доставку нужного количества оксигенированной крови для удовлетворения возросших потребностей работающих мышц.

В табл. 16-1 показано, какие изменения потребления кислорода и ряда других физиологических параметров вызваны физической работой. Многие из этих изменений зависят от степени тренированности обследуемого человека. При сравнении высоко тренированных спортсменов с людьми, ведущими малоподвижный образ жизни, можно сделать два вывода: 1) в условиях выполнения сходной работы умеренной тяжести спортсмены обнаруживают меньшее, чем нетренированные люди, отклонение всех регистрируемых параметров от уровня покоя и 2) чем лучше тренирован спортсмен, тем больше могут возрасти, приближаясь к максимальному уровню, такие его параметры, как потребление кислорода, концентрация лактата в крови, скорость легочной вентиляции и минутный объем сердца. Короче говоря, спортсмен при малой и умеренной физической нагрузке работает с большей эффективностью (т. е. с меньшими энергозатратами) и способен перенести большие физические нагрузки.

До недавнего времени, как правило, не учитывали значение

Таблица 16-1. Физиологические эффекты физической нагрузки[1)]

Физиологический параметр	В покое	При нагрузке	
		средняя величина	максимальная величина
Потребление кислорода, мл/мин	250	2500—3500	5000
Кислородная задолженность, л		4—8	16—19
Концентрация лактата в крови, мг%	10—15	50—100	200
Дыхание			
Частота, мин$^{-1}$	12—16	30	60
Объем вдоха, мл	350	2000	2200
Минутный объем, л	4,5—6	50—70	120
Кровообращение			
Частота пульса, в мин.	70	120—150	200
Ударный объем, мл	60—70	90—110	150
Минутный объем, л	4—5	10—20	35
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст.	120	160	180
Температура, °С	—	+0,5—1	+2

1) По Houssay B. A. (1955). Human Physiology, New York, McGraw-Hill Book Co.

физической активности в поддержании энергетического баланса. Теперь же многие авторы, изучающие проблемы энергетического баланса у человека, подчеркивают, что отсутствие физической активности вносит существенный вклад в развитие ожирения у некоторых лиц.

Майер с сотр. тщательно обследовали тучных учениц старших классов и разделили их на две группы: 1) девочки, потребляющие избыточные количества пищи, и 2) девочки, ведущие крайне малоподвижный образ жизни, но потребляющие не больше пищи, чем их сверстницы с нормальной физической активностью и средней массой тела. Имеются экспериментальные данные, подтверждающие ту точку зрения, что центральный механизм регуляции потребления пищи не был, так сказать, предназначен к «преодолению» крайне низкого уровня физической активности, возможного в современном индустриальном мире. Вопреки широко распространенному предрассудку, изменение уровня активности от очень низкого к умеренно высокому не обязательно повышает аппетит, что якобы нивелирует выгоду дополнительного расходования энергии, связанного с физическими нагрузками.

И другие авторы изучали возможную роль малой подвижности в патогенезе ожирения (Stunkard et al.). Даже грубо оценивая физическую активность шагомером (суммарно регистрирующим пройденное расстояние), авторы сумели показать, что многие тучные женщины (но не мужчины) гораздо менее подвижны, чем женщины контрольной группы со средней массой тела. При этом тучные женщины не потребляли избытка пищи.

Обнаружена крайне интересная зависимость между энергозатратами и калорическим балансом (Edholm et al.). Авторы обследовали группу курсантов в условиях, позволяющих тщательно оценивать потребление калорий и энергозатраты. При сравнении суточного потребления пищи и энергозатрат оказалось, что эти параметры (в любой отдельно взятый день) практически *не коррелируют* друг с другом. Однако удалось выявить четкую корреляцию при сопоставлении энергозатрат в определенный день с количеством пищи, потребленной двумя днями позже. Таким образом, сегодняшний уровень физической активности сказывается на послезавтрашнем уровне спонтанного потребления пищи.

Заслуживает рассмотрения еще один аспект взаимосвязи мышечной работы и энергетического баланса. При переедании и прогрессирующем ожирении энергетическая цена перемещения тела с одного места на другое постоянно возрастает. Совершенно очевидно, что человек массой 120 кг совершает значительную работу, просто передвигаясь по комнате. Таким образом, бо́льшие усилия, затрачиваемые на поддержание в вертикальном положении и перемещение тучного тела, должны в какой-то мере ограничивать возможную степень ожирения. Абсолютное потребление кислорода тучными людьми в состоянии покоя выше, чем у лиц контрольной группы (без ожирения), а при физической работе энергозатраты могут быть крайне высокими. Печальный факт заключается в том, что точно так же, как прогрессирующая прибавка массы тела до некоторой степени сама себя ограничивает возрастающей физической нагрузкой, потеря массы ограничивается тем же, но противоположно направленным механизмом. Действительно, по мере снижения массы на поддержание и перемещение тела затрачивается все меньшая работа, а потому все меньшее количество пищи обеспечивает сохранение ожирения. Кроме того, потеря массы приводит к некоторому уменьшению и «тощей массы тела» (метаболически активной массы) и тем самым еще больше снижает энергетические потребности. Все это в определенной мере объясняет, почему многим тучным людям трудно «сбросить вес».

Бьёнторп и др. (Bjorntorp et al.) изучали влияние физических нагрузок на людей, страдающих ожирением. Они обнаружили, что физические тренировки, даже если не приводят к заметному снижению массы тела, улучшают толерантность к глюкозе и снижают повышенный натощак уровень инсулина. Тренировки вызывали гипертрофию мышц, не снижая массы тела; при этом размеры адипоцитов уменьшались. Возникает вопрос, касающийся рекомендаций по снижению массы тела: если тучные малоподвижные люди вовлекаются в программу физических тренировок, имеющих те же метаболические последствия, что описаны Бьёнторпом и др., то не уменьшается ли у них риск развития ослож-

нений даже без снижения массы тела? Так показано (например, Leonhardt et al.), что у больных диабетом II типа содержится меньше адипоцитов, чем у тучных лиц без диабета. Иными словами, *декомпенсация β-клеток* (развитие ожирения) теснее коррелирует с размерами адипоцитов, чем с их количеством. Можно ли считать гиперпластическую форму ожирения, если она имеет место у физически тренированных лиц, ответственной за те осложнения, которые обычно относят на ее счет? (См. ниже раздел об отдаленных последствиях ожирения.)

Экспериментальные модели ожирения

Едва ли найдется другая проблема биологии, развитие которой в большей степени опиралось бы на изучение экспериментальных моделей на животных, чем проблема ожирения. Мы уже рассматривали опыты на животных с поврежденной вентромедиальной и латеральной областями гипоталамуса. Эти модели не потеряли свою актуальность и сегодня.

Кроме того, ожирение воспроизводилось у крыс и мышей путем изменения характера *питания*, т. е. скармливания им очень привлекательной для грызунов, обогащенной жирами пищи; ожирение развивается особенно успешно, если животных содержат в тесных клетках.

Гиперфагию и ожирение можно вызвать у животных с помощью систематических *инъекций инсулина*; эта модель имитирует ожирение у больных с инсулин-продуцирующими опухолями. Точно так же инсулинорезистентность, гиперинсулинизм и ожирение развиваются у животных, которым вводят *глюкокортикоиды* или имплантируют *АКТГ-продуцирующие опухоли*. Такой вид экспериментального ожирения соответствует синдрому Кушинга у человека.

Этот краткий перечень показывает, что ожирение может иметь различные причины, и поэтому его лечение требует индивидуального подхода.

Наследственность

Экспериментальное наследственное ожирение

У мышей известны многие виды генетического ожирения. Наиболее подробно изучены мыши линии *ob/ob*; у этих животных одновременно наблюдаются ожирение и гипергликемия (рис. 16-8). Они несут рецессивный ген, проявляющийся резким ожирением у одной из каждых четырех особей. Ожирение, как правило, развивается после четвертой недели жизни. При ограничении корма до количества, потребляемого контрольными животными, резкая

прибавка массы не развивается, но мыши линии *ob/ob* содержат втрое больше жира, чем контрольные.

Несмотря на низкое поглощение кислорода в покое и сниженную подвижность, мыши линии *ob/ob* потребляют пищи на 20—50% больше, чем контрольные животные. У них наблюдается гипертрофия островков Лангерганса и гиперинсулинемия, а во всех исследованных тканях — инсулинорезистентность. Жировые клетки этих мышей устойчивы к липолитическому действию катехоламинов, а липогенез в них повышен даже в условиях голода. Имеются некоторые данные о том, что и реэтерификация жирных кислот в триацилглицеролы протекает интенсивнее, чем у контрольных животных.

Как уже отмечалось, большой интерес вызывает потеря способности мышей *ob/ob* к недрожательному термогенезу при охлаждении. Считают, что снижение основного обмена и неспособность поддерживать температуру тела на холоду обусловлена главным образом низкой активностью Na^+,K^+-АТФазы.

Эксперименты на мышах *ob/ob* сыграли важную роль в изучении регуляции рецепторов инсулина (Kahn et al.). Адипоциты этих животных содержат меньшее число соответствующих рецепторов. Если их массу тела путем лишения корма доводили до нормальной, количество рецепторов, приходящееся на каждую



Рис. 16-8. Наследственный синдром ожирения с диабетом у мышей. По особенностям метаболизма эти животные отличаются от мышей, страдающих только ожирением. (См. рис. 16-5.)

клетку, у них возрастало. Следует отметить, что пониженное связывание инсулина и инсулинорезистентность были обнаружены и в мышечной ткани мышей линии *ob/ob* (Le Marchand-Brustel). Таким образом, хотя жировым клеткам уделяется основное внимание при изучении ожирения, однако нарушения метаболизма выявлены и в мышечной, печеночной и других тканях животных, страдающих ожирением.

Другая широко распространенная модель генетического ожирения — *крысы линии Цуккер* (*fa/fa*) (см. обзор Bray). Составлен длинный список различий между крысами Цуккер и крысами с поврежденной вентромедиальной областью гипоталамуса. Одна из отличительных особенностей линии Цуккер — очень высокой уровень триацилглицеролов и холестерола в крови, который остается повышенным даже у голодных животных.

Крысы Цуккер служат прекрасной моделью гиперпластического ожирения, поскольку в любом возрасте у них определяется повышенное количество жировых клеток. Пролиферация адипоцитов у этих животных, по-видимому, не ограничивается неонатальным периодом. Довольно рано у них развивается гиперинсулинизм и инсулинорезистентность, но природа первичного дефекта остается неизвестной. Повышенная активность липопротеинлипазы обнаружена в адипоцитах таких крыс на второй неделе после рождения, т. е. задолго до того, как у животных проявляется ожирение (Gruen et al.).

Приведем одно из наблюдений, демонстрирующих различия в этиологии разных видов ожирения. Паули и Опсал (Powley, Opsahl) обнаружили, что ваготомия существенно уменьшает ожирение у крыс с поврежденной вентромедиальной областью гипоталамуса. Та же операция у крыс линии Цуккер не давала никакого эффекта. Следовательно, интактность связи между ЦНС и эндокринной частью поджелудочной железы, будучи существенным фактором патогенеза гипоталамического ожирения (при повреждении вентромедиальной области гипоталамуса), не играет роли в развитии ожирения у крыс Цуккер. Не известно, как скоро будут разработаны приемлемые с этической точки зрения методики, которые позволили бы разграничивать отдельные виды ожирения у человека.

Другое интересное исследование, иллюстрирующее взаимосвязь наследственности и факторов окружающей среды (Hackel et al., см. Brodoff), касается возникновения *ожирения и диабета у пустынных крыс*. В естественной среде обитания эти животные кормятся сочными растениями, потребляют очень мало воды и никогда не страдают ни ожирением, ни диабетом. Однако в лабораторных условиях у этих животных быстро развивается ожирение, а потом и диабет. При переводе животных на привычную диету оба заболевания исчезают. Результаты опытов на пустын-

ных крысах повторяют ситуацию, наблюдающуюся в некоторых человеческих популяциях при резком изменении образа жизни. Среди отдельных племен Банту в Южной Африке ожирение и диабет встречаются редко. Однако при переезде этих людей в города, что сопряжено с увеличением калорийности пищи и снижением энергозатрат, у многих из них развиваются и ожирение, и диабет.

Наследственность у человека

Роль наследственных факторов в патогенезе ожирения у человека подтверждена целым рядом данных. Частое совпадение случаев ожирения у родителей и детей — не слишком убедительное доказательство, поскольку дети уже очень рано воспринимают принятый в семье характер питания и могут придерживаться его в течение многих лет. Однако исследования, проведенные на монозиготных близнецах, обнаружили у них гораздо большее совпадение массы тела, чем у дизиготных близнецов или среди других сибсов. Более того, даже когда монозиготные близнецы были с детства разлучены и обследовались уже во взрослом состоянии, между ними все еще сохранялось сходство в массе тела, хотя в этом случае расхождения были бо́льшими, чем среди близнецов, живущих в одном доме.

В 1986 г. Стункард и др. (Stunkard et al.) представили наиболее убедительные на сегодня доказательства существования наследственного компонента не только ожирения, но и худобы. В этом исследовании 540 взрослых датчан, воспитывавшихся как приемные дети, были разделены на четыре группы (худые, со средней массой, с избытком массы, с ожирением); показатели массы тела во всех четырех группах тесно коррелировали с массой тела их настоящих, но не приемных родителей.

Хотя результаты данного исследования подтверждают роль генетического фактора в этиологии ожирения у человека, не следует отказываться от попыток лечения ожирения. Исследования на животных и человеке подтверждают значение многих факторов окружающей среды в развитии и сохранении ожирения, а также возможность его ограничения или даже обратного развития у ряда лиц. Имеются и данные о том, что успешное лечение ожирения снижает частоту ряда тяжелых заболеваний. Интересующимся наблюдениями Стункарда и др. можно рекомендовать сопроводительную статью издателя Ван Италлие (Van Itallie).

Метаболические нарушения у людей, страдающих ожирением

У тучных людей выявлены многочисленные *нарушения обмена веществ*. Первым было описано *нарушение толерантности к глюкозе*; позднее Ньюбург и Конн (Newburgh, Conn) установили, что

нормальная толерантность к глюкозе восстанавливается при снижении массы тела. У лиц, страдающих ожирением, часто наблюдается *гиперлипидемия* как за счет триацилглицеролов, так и за счет холестерола. Нередко она имеет форму пре-β-липопротеинемии. Обычно обнаруживается *гиперинсулинемия* и повышенная секреция инсулина, определяемая в различных специфических тестах. Многократно отмечалось увеличение *экскреции глюкокортикоидов с мочой* при ожирении, но при этом лиц, страдающих ожирением, можно легко отличить от больных синдромом Кушинга по соотношению экскреции глюкокортикоидов и креатинина (Streeten et al.). При ожирении это соотношение остается в пределах нормы.

У людей, страдающих ожирением, наблюдаются гораздо меньшие колебания *концентрации гормона роста в плазме* крови, например после введения аргинина, физической нагрузки или спонтанно в периоды очень глубокого сна.

Позднее в работах Хирша (Hirsch), Саланса (Salans), Ниттла (Knittle) и их сотрудников было показано, что у многих тучных людей размеры и количество адипоцитов увеличены, хотя некоторые исследователи указывают только на увеличение размеров адипоцитов. Крупные адипоциты, полученные от тучных людей, in vitro нечувствительны к инсулину; однако уменьшенные в размерах адипоциты (после снижения массы тела) могут приобретать относительную гиперчувствительность к инсулину.

Являются ли эти изменения следствием ожирения, или какие-то из них могут быть его причиной? Симс, Хортон и Саланс (Sims, Horton, Salans, 1971) попытались ответить на этот вопрос в исследовании, известном под названием «вермонтского». Предварительно обследованных молодых мужчин (находящихся в тюрьме) понуждали к систематическому перееданию; когда масса их тела превышала исходную на 25%, обследование повторяли. После этого испытуемым предлагали есть по желанию; все без исключения восстанавливали свою исходную массу тела; на этом фоне еще раз проводили обследование. Полученные результаты суммированы в табл. 16-2.

После прекращения переедания и восстановления исходной массы тела все наблюдавшиеся сдвиги нормализовались. Следует отметить, что у некоторых испытуемых, несмотря на документированное переедание, ожирение не развивалось, а в тех случаях, когда оно возникало, имелась лишь слабая корреляция между потреблением калорий и реальной прибавкой массы. Один из наиболее интересных результатов этого исследования отражен в последней строке табл. 16-2: люди со спонтанным ожирением для сохранения своей повышенной массы нуждались во вдвое меньшем количестве калорий, чем испытуемые, у которых ожирение индуцировалось перееданием.

Таблица 16-2. Результаты «вермонтского исследования» (см. текст)[1]

Показатель	Спонтанное ожирение	Индуцированное ожирение
Жировая ткань		
Размер клеток	↑	↑
Число клеток	Норма или ↑	Норма
Чувствительность к инсулину		↓
Мышца предплечья		
Чувствительность к инсулину		↓
Липиды крови		
Холестерол	↑	↑ (тенденция)
Триацилглицеролы	↑	↑ (тенденция)
СЖК	Норма или ↑	↓ (тенденция)
Толерантность к глюкозе	Норма или ↓	↓ (тенденция)
Концентрация инсулина в плазме крови	Норма или ↑	Норма или ↑
Концентрация гормона роста в плазме крови	↓	↓
Потребность в килокалориях для поддержания ожирения	$1300/м^3$	$2700/м^3$

[1]) По Sims E. A. H., Horton E. S., Salans L. (1971). Annu. Rev. Med., 22, 235.

Симс справедливо подчеркнул, что совпадение сдвигов при спонтанном и индуцированном ожирении не обязательно доказывает, что в случае спонтанного ожирения эти сдвиги вторичны (т. е. вызваны самим ожирением). Полученные данные указывают только на то, что у лиц без предсуществующего ожирения могут возникать обратимые метаболические изменения.

Изучение размеров и числа адипоцитов способствует пониманию причин тех трудностей, с которыми сталкиваются многие тучные люди, пытаясь снизить массу тела. Большое число клеток в жировой ткани создает громадную емкость для накопления калорий, которая еще больше увеличивается по мере уменьшения размеров крупных клеток и восстановления их чувствительности к инсулину. Гиперплазия жировой ткани может определяться либо генетически, либо перекармливанием в неонатальном периоде. В то же время к важнейшим выводам вермонтского исследования относятся следующие: 1) к концу опыта испытуемые спонтанно уменьшали количество потребляемой пищи до исходного уровня, 2) для поддержания ожирения им требовалось 2700 калорий/м² и 3) все они восстановили нормальную массу своего тела. Таким образом, при всем сходстве изменений изученных параметров при индуцированном и спонтанном ожирении между этими состояниями должны существовать какие-то пока неясные различия.

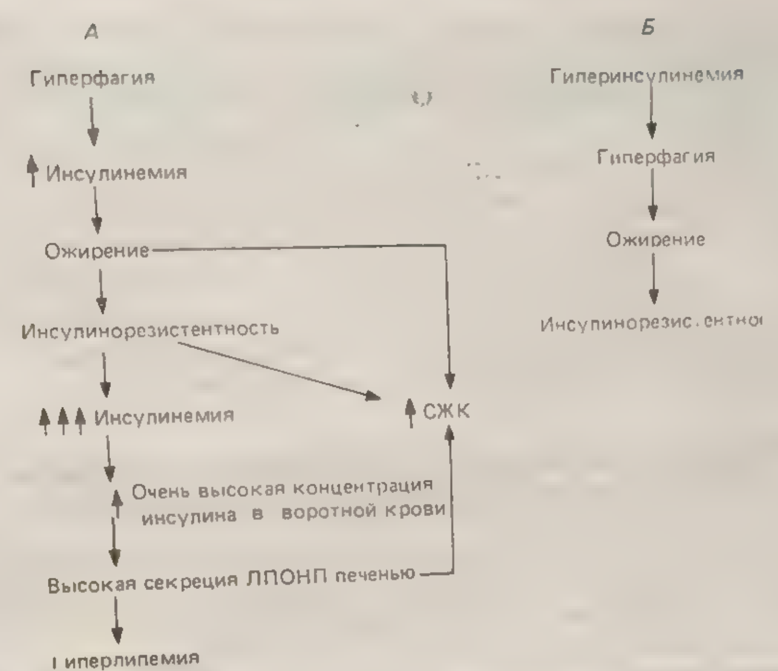


Рис. 16-9. *А* и *Б* — некоторые возможные взаимосвязи между ожирением, гиперинсулинемией и гиперлипемией. СЖК — свободные жирные кислоты. ЛПОНП — липопротеины очень низкой плотности.

Ожирение часто сопровождается гиперлипидемией (гиперхолестеринемией и гипертриглицеридемией), и действительно, у людей с семейными гиперлипидемиями при снижении массы тела часто нормализуются и концентрации липидов в сыворотке крови. Следует подчеркнуть сочетание ожирения с нарушенной толерантностью к глюкозе, равно как и связь ожирения с диабетом взрослого типа. Поскольку и ожирение, и гиперлипидемия, и нарушение толерантности к глюкозе являются результатом сложного взаимодействия причинных и предрасполагающих факторов, часто очень трудно (особенно в эпидемиологических исследованиях) оценить, что именно оказалось решающим в возникновении каждого из этих трех нарушений. В основном именно поэтому ставят под сомнение значение «чистого» ожирения в качестве достоверного фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний (см. Mann).

Точная связь между ожирением и гиперлипидемией неизвестна, как неизвестно и то, всегда ли сохраняется одна и та же последовательность событий. Об этой последовательности (рис. 16-9, *А*) можно судить на основании исследования Фарквара и др. (Farquhar et al.), которые заключили, что обусловленная ожирением инсулинорезистентность первична, а гиперпродукция ЛПОНП печенью вторична. По данным Жанрено (Jeanrenaud), при большинстве видов экспериментального ожирения отчетли-

вый гиперинсулинизм возникает очень рано и, более того, выявляется даже в отсутствие гиперфагии. Поэтому гиперфагия может быть следствием гиперинсулинизма (рис. 16-9, *Б*). В любом случае с увеличением накопления триацилглицеролов в жировых клетках появляется тенденция к повышению уровня СЖК в крови, что обеспечивает поступление в печень большего количества субстратов для синтеза ЛПОНП. При снижении массы тела восстанавливается чувствительность к инсулину во всех инсулинозависимых тканях и снижается уровень инсулина в сыворотке (как натощак, так и после стимуляции), и на этой основе возможно обратное развитие нарушений липидного обмена.

Локальные особенности метаболизма адипоцитов; связь с изменением метаболизма при ожирении

Одно время всю жировую ткань организма рассматривали как единый огромный диспергированный орган. Теперь же очевидно, что адипоциты разных жировых депо могут различаться по размерам и реакции на гормоны. И первым доказательством этого служит тот факт, что у мужчин жир откладывается преимущественно на животе и верхней части туловища, тогда как у женщин — в нижней половине туловища (ягодично-бедренное ожирение). Широко известно, что метаболические последствия ожирения (нарушенная толерантность к глюкозе, диабет, гиперлипидемия, гипертония) более тесно коррелируют с ожирением верхней половины тела (называемым также абдоминальным или андроидным), чем нижней (бедренным или гиноидным). (Доказательства см. в работах Kissebah, а также Smith.)

В настоящее время эти различия можно объяснить на уровне клеточной биологии. После того как было показано, что абдоминальные адипоциты человека гораздо более чувствительны к липолитической (бета) стимуляции адреналином, чем жировые клетки бедра, Лафонтен и др. (Lafontan et al.) пришли к выводу, что бедренные адипоциты более чувствительны к альфа-стимуляции, чем абдоминальные. Альфа-стимуляция (подобно инсулину) дает антилиполитический эффект, т. е. способствует задержке липидов в каплях триацилглицеролов. Эти различия в реактивности по отношению к гормонам могли бы служить причиной быстрого кругооборота триацилглицеролов в абдоминальных адипоцитах с более высоким уровнем свободных жирных кислот в крови и вторичным повышением уровня ЛПОНП. Более высокий уровень свободных жирных кислот мог бы со временем способствовать развитию инсулинорезистентности и вторично — воротной (и периферической) гиперинсулинемии. Это должно было бы еще больше стимулиро-

вать секрецию ЛПОНП печенью. С другой стороны, бедренные клетки могли бы обусловливать более медленный кругооборот триацилглицеролов, что не имело бы описанных выше последствий.

Один из наиболее интересных примеров целесообразности *различий* функционирования отдельных жировых депо содержится в работе Ребуффе-Скрайв и др. (Rebuffé-Scrive et al.), посвященной региональным реакциям жировых клеток при беременности и лактации. Подтвердив, что липолитическая реакция бедренных адипоцитов на норадреналин у небеременных женщин и на ранних стадиях беременности достаточно низка, эти авторы показали, что во время лактации эта реакция становится такой же, как в абдоминальных клетках. Беременность и лактация не влияли на активность липопротеинлипазы в абдоминальных клетках, но в бедренных клетках ее активность при лактации менялась, способствуя липолизу. Выгоду от такого удачного «сотрудничества» между бедренными жировыми клетками и секреторными клетками молочной железы получает в конечном счете ребенок.

Окружающая среда

Очевидно, что способность любого человека поддерживать свой энергетический баланс зависит от взаимодействия факторов окружающей среды с физиологическими механизмами и наследственными компонентами. Чтобы охватить проблему целиком, важно рассмотреть пути этого взаимодействия. Энергетический баланс при потреблении большого количества пищи легче поддерживать на холоду, чем в тепле. Высокие температуры легче переносятся при низкой влажности, чем при высокой. Степень доступности пищевых продуктов может сдвигать энергетический баланс в любом направлении. Когда во время второй мировой войны целые популяции существовали в условиях потребления 1500 калорий в сутки на человека, ожирение исчезло. В странах, производящих избыток пищевых продуктов, оно широко распространено; здесь очень часто встречаются случаи положительного энергетического баланса (несомненно, еще и потому, что во многих из этих стран можно жить в условиях крайне низких энергозатрат).

Кроме физической окружающей среды существует сложная *психологическая среда*, зависящая от межличностных взаимоотношений разного уровня близости. Не может быть никакого сомнения в том, что эта среда воздействует на энергетический баланс индивидуума. Человек, увлеченный своей работой, с гораздо меньшей вероятностью будет потреблять чрезмерно большое количество пищи, чем скучающий человек, постоянно окруженный легко доступными яствами.

Психологическим фактором, действующим в противоположном направлении, является тот стандарт красоты, который принимает большинство населения. Пропаганда в качестве идеала красоты голливудских кинозвезд, несомненно, заставляет многих девочек-подростков сознательно избегать полноты и непривлекательности, и иногда эти усилия эмоционально слишком дороги (см. ниже раздел, посвященный *нарушениям питания*). В некоторых племенах Восточной Африки девочек готовят к замужеству путем усиленного кормления и ограничения физической активности, и чем толще они становятся, тем более желанны как невесты.

Как наглядно показывает этот пример, психологическая среда неотделима от *социальной, политической, культурной* и даже *моральной*. Традиции питания в разных обществах различны. Промышленные цивилизации характеризуются тенденцией к снижению уровня физической активности. Во многих странах небольшое число людей получают деньги за занятия спортом ради удовольствия миллионов, которые сидят и смотрят на них. Влияние повсеместного распространения телевидения на проблему «коллективного» энергетического баланса в США трудно оценить, поскольку это приятное времяпровождение связано не только с минимальной физической активностью, но и максимальными соблазнами в виде пропаганды пищевых продуктов и пива, которой почти невозможно сопротивляться. Такое сочетание требует невообразимо прочных физиологических механизмов регуляции энергетического баланса.

Психологические факторы и модификация поведения

Хотя основные нейрофизиологические и метаболические механизмы регуляции энергетического баланса у человека могут иметь сходство с таковыми у экспериментальных животных, высокая энцефализация процесса в первом случае обеспечивает возможность наложения вето на физиологически адекватные сигналы голода или сытости. В большинстве человеческих цивилизаций еда или воздержание от нее связаны с ритуалом, эмоциями, гедонистическими представлениями и даже религиозными обычаями.

Психологические воздействия могут быть инициирующим фактором ожирения, однако среди огромного количества тучных людей психические заболевания встречаются не чаще, чем среди остального населения. Тем не менее, особенно у подростков, ожирение может снижать самооценку и вызывать ощущение принадлежности к унижаемому меньшинству (Mayer), причем часто это соответствует действительности, поскольку во многих обществах действительно имеет место та или иная степень скрытой дискриминации тучных людей.

Тот же самый вопрос — причина или следствие? — применим к результатам исследования Шехтера и др. (Schachter et al.), показавшим, что тучные люди реагируют скорее на внешние пищевые сигналы, чем на физиологические ощущения голода или сытости (см. Nisbett). После оперативного шунтирования кишечника (см. ниже) у людей с массивным ожирением психологические тесты обнаруживают нормализацию отношения к пищевым сигналам (Solow et al.). Хотя пищевое поведение тучных лиц напоминает таковое у животных с поврежденной вентромедиальной областью гипоталамуса, нет никаких данных о том, что измененная реакция на пищевые сигналы играет существенную роль среди причин ожирения у человека.

Только у 10% взрослых лиц, страдающих ожирением, оно имелось в раннем или позднем детстве; у остальных 90% ожирение развилось уже в зрелые годы. Согласно одной гипотезе, образ жизни, определяющий положительный энергетический баланс, в значительной мере зависит от привитых воспитанием особенностей поведения, которые поддаются исправлению. Основываясь на этой гипотезе, психолог Стюарт (Stuart) предложил подход к лечению ожирения, известный под названием *«модификация поведения»*. Этот термин неудачен, поскольку для многих людей «модификация поведения» звучит подозрительно. На самом же деле методика предполагает самообучение тучных людей под руководством терапевта. На основании подробного дневника проводится тщательный анализ всех сторон образа жизни, связанных с питанием и физической активностью. Пользуясь этими сведениями, можно систематически исключать нежелательные навыки и заменять их на нужные. Преимущество данного метода — возможность индивидуального подхода к лечению ожирения у каждого человека. Он приемлем и для групп самопомощи.

Первые сообщения об эффективности такого метода обнадеживали, но сроки наблюдения не были достаточно длительными. Пока нет данных, которые указывали бы на эффективность его применения у лиц с массивным ожирением. Поскольку, однако, обычные способы лечения ожирения, даже в высокоспециализированных медицинских центрах, дают не слишком впечатляющие результаты, сохраняется надежда на то, что описанный выше метод оправдает возлагавшиеся на него надежды. Высокую частоту неудач в большинстве центров можно объяснить, вероятно, опытом одной из диабетологических клиник, где добились определенного успеха (см. Davidson): вместо раздачи печатных списков диет чересчур общего характера в этой клинике проводили не менее чем 25-часовой инструктаж больных.

Пример программы модификации поведения приведен в руководстве Фергюсона.

Хирургическое лечение массивного ожирения

Когда тучному человеку не удается похудеть ни с помощью соблюдения диеты, ни путем физических нагрузок, ни какими-либо другими способами, в некоторых лечебных центрах может быть предпринята попытка хирургического подхода. Этот способ применяется только при массивном ожирении, да и то лишь в очень немногих случаях. В ряде медицинских центров отбор кандидатов на операцию производится бригадой в составе хирурга, терапевта и психиатра.

Различного рода *шунтирование* тощей и подвздошной кишки с целью уменьшения всасывающей поверхности кишечника проведено у ряда лиц с избытком массы не менее 100%, что и служило показанием к операции. При этом описано большое число ближайших и отдаленных осложнений, включая жировую инфильтрацию печени, полную печеночную недостаточность, белковое голодание, а также нарушения водного и электролитного обмена. Хотя такая операция дает удовлетворительные результаты, в настоящее время предпочитают производить ту или иную форму *гастропластики*, т. е. механическое ушивание желудка до небольшой части его исходного объема. Такие операции, выполняемые у людей, по определению плохо переносящих наркоз и хирургическое вмешательство, представляют собой далеко не идеальный способ лечения. Тем не менее они будут производиться до тех пор, пока существуют тучные люди, настолько отчаявшиеся похудеть, что готовы дать формальное согласие на операцию, даже будучи информированными о всех возможных последствиях (см. обзор Wastell).

Отдаленные последствия ожирения

Выше биологические проблемы энергетического баланса рассматривались с различных точек зрения и на разных уровнях организации — от биохимического до социального. Ожирение, которое можно считать следствием длительного положительного энергетического баланса, трактовалось как результат взаимодействия многих факторов, причем подчеркивалось, что у разных людей ожирение может иметь разные причины. Каковы бы эти причины ни были, ожирение, особенно существующее длительное время, сопряжено со значительным риском заболеваемости и преждевременной смертности. На рис. 16-1 было показано, что наибольшей расплатой за чрезмерную массу тела является учащение преждевременной смерти на третьем,

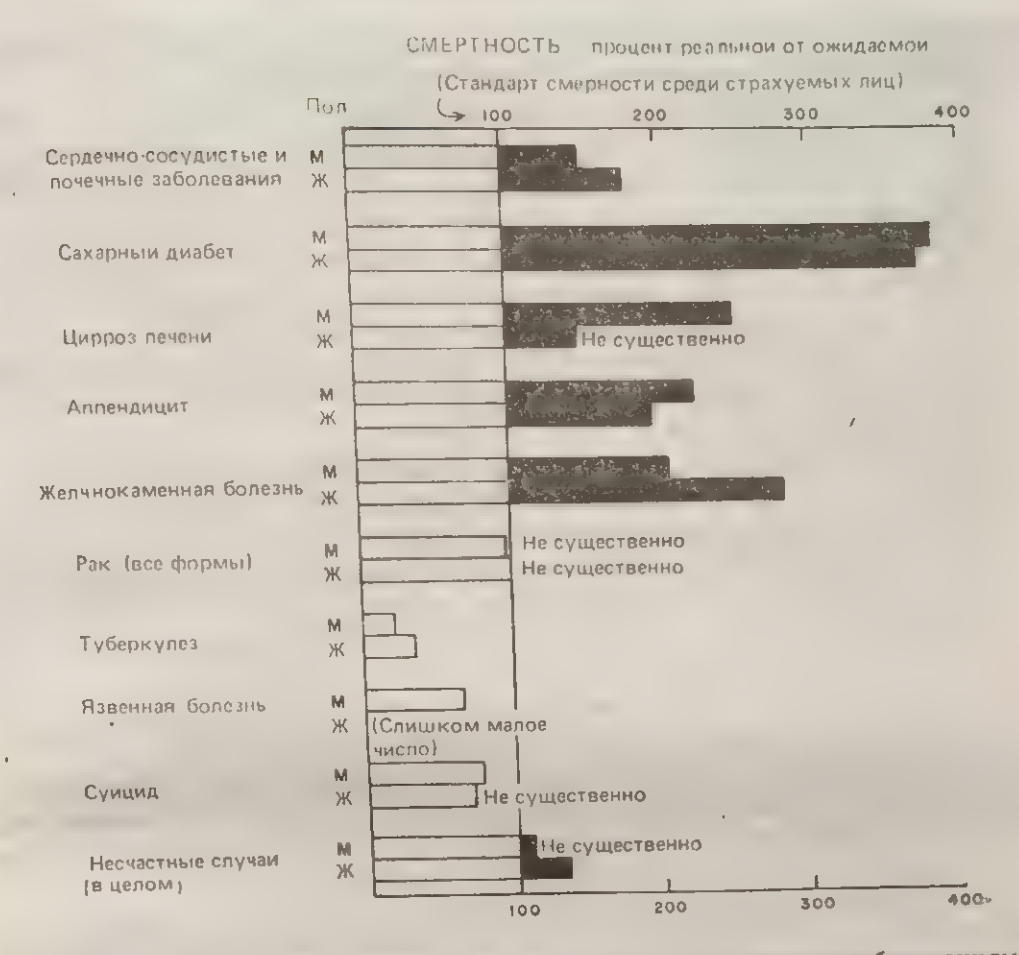


Рис. 16-10. Влияние ожирения на восприимчивость к различным заболеваниям. *Темные столбики* отражают повышенную восприимчивость у лиц с избыточной массой тела. (По Marks H. H. (1960). Bull. N. Y. Acad. Med., **36**, 15.)

четвертом и пятом десятилетии жизни. На рис. 16-10 некоторые основные причины смерти среди мужчин и женщин, рассматриваемые страховой компанией как дополнительный риск, даны в процентах от показателей смертности, принятых этой компанией в качестве стандарта. Хотя данные других компаний могут в деталях отличаться от приведенных на рисунке, эти цифры наглядно показывают «цену» избыточной массы с точки зрения смертности. Сюда не вошли другие показатели, которые практически невозможно оценить, а именно: частота серьезных заболеваний или число дней нетрудоспособности вследствие болезни, в той или иной степени связанной с ожирением. Ясно, что и эти показатели должны быть очень большими.

Патология, объединенная термином «сердечно-сосудистые и почечные заболевания», включает в основном заболевания

сердца, мозга и почек, наиболее частой причиной которых являются атеросклеротические поражения сосудов.

Как отмечалось выше, эти осложнения коррелируют с абдоминально-андроидным типом ожирения, а не с бедренно-гиноидным. Поскольку во всех старых эпидемиологических исследованиях между ними не делалось никакого различия, приведенные на рис. 16.10 показатели риска, обусловленного избыточной массой тела, особенно у тучных лиц моложе 50—55 лет, могут быть заниженными. Выше говорилось и о том, что показатели риска для лиц с ожирением (или, во всяком случае, с избыточной массой тела) старше 55 лет могут оказаться несколько меньшими, чем считали ранее.

Ожирению часто сопутствует гипертония — хорошо известный фактор риска заболеваний, связанных с атеросклерозом. Действительно, артериальное давление у тучных лиц нередко снижается просто при похудании без всякого ограничения соли (см. Reisin et al.).

При ожирении возрастает и частота желчнокаменной болезни, поскольку желчь у тучных лиц оказывается литогенной, т. е. содержит недостаточное количество детергентов, растворяющих холестерол. Статистические показатели на рис. 16-10 могут определяться не только тем, что ожирение предрасполагает к образованию желчных камней, но и резко отягощающим влиянием ожирения на результаты наркоза и операции, часто необходимой при желчнокаменной болезни. Именно это, вероятно, объясняет и отраженный на рис. 16-10 факт повышенной смертности тучных людей от аппендицита. Анестезиологам часто трудно проводить вентиляцию легких у лиц с ожирением, а время вводного наркоза и период выхода из него у таких людей обычно затягиваются. Жировые отложения и трудности релаксации мышц повышают требования к мастерству хирурга. Кроме того, при ожирении чаще возникают послеоперационные осложнения, такие, как тромбоэмболия.

Высокая частота цирроза печени при ожирении соответствует результатам опытов на животных; при всех до сих пор изученных видах экспериментального ожирения наблюдалась жировая инфильтрация печени — частый предвестник цирроза.

Проблема рака осложняется тем обстоятельством, что, хотя между ожирением и всеми видами рака нет четкой связи, некоторые экспериментальные и клинические данные указывают на существование зависимости между хроническим перееданием и отдельными специфическими формами этого заболевания. Показано, что ожирение, индуцируемое ауротиоглюкозой, не только ускоряет появление рака молочных желез у мышей высокораковой линии, но и приводит к развитию более крупных и быстро растущих опухолей (Waxler). Аналогичным образом

перекармливание влияет на первичные гепатомы (Waxler). Клинические наблюдения указывают на связь между ожирением и двумя видами рака у женщин, а именно: раком груди и эндометрия. Считают, что женщины, страдающие ожирением, чаще заболевают раком эндометрия потому, что их жировая ткань обладает большей способностью ароматизировать андростендион в эстрон. Это приводит к усиленной стимуляции тканей, чувствительных к эстрогенам (см. гл. 9). Высокая частота несчастных случаев среди женщин с избыточной массой тела может иметь много приемлемых объяснений, но, так или иначе, распространенность несчастных случаев является еще одним видом расплаты за ожирение.

Массивное ожирение сопровождается нарушениями дыхания. Они характеризуются одышкой, выраженным снижением физической работоспособности, сонливостью и в некоторых случаях цианозом. Все это иногда называют синдромом Пиквика, поскольку, по мнению ряда исследователей, диккенсовский портрет «жирного парня» намного предвосхитил современное представление о соответствующем синдроме. Нарушение дыхания связано с тем, что массивные подкожные жировые отложения ограничивают движения грудной клетки, а большие скопления жира в брюшной полости препятствуют опусканию диафрагмы. Когда к увеличенным потребностям в кислороде, обусловленным необходимостью перемещать более тяжелое тело, добавляется затрудненный газообмен, относительная легочная недостаточность усиливается. В тяжелых случаях эти несчастные люди не способны ни на что большее, чем просто перемещать порции воздуха вперед и назад с помощью частых поверхностных и неэффективных дыхательных движений. У пожилых лиц это нарушение может сочетаться с атеросклеротическим поражением сердца, что служит еще одной причиной одышки.

Не вызывает сомнений связь между диабетом взрослого типа и ожирением, как и тот факт, что диабет предрасполагает к преждевременной смерти от сердечно-сосудистых заболеваний (см. рис. 14-23). Учитывая столь высокую частоту ожирения и диабета в промышленных странах, понятно, что крупномасштабные мероприятия по профилактике ожирения или его эффективному лечению должны были бы предотвратить или отсрочить возникновение огромного количества заболеваний. С другой стороны, может существовать подгруппа людей с избыточной массой тела (например, с гиперпластической формой ожирения без увеличения размеров адипоцитов, хорошо тренированные физически или с бедренно-гиноидным ожирением), у которых риск заболеть диабетом не выше, чем у лиц без ожирения. Лучшее понимание механизмов ожирения, диабета

и атерогенеза когда-нибудь позволит выявить людей с наибольшим риском и именно на них сконцентрировать профилактические и лечебные мероприятия.

Нарушения питания: нервная анорексия и булимия

Если говорилось о широком распространении ожирения как основного следствия положительного энергетического баланса, то нельзя не упомянуть и о настоящих эпидемиях недостаточного питания (как с энергетических позиций, так и с точки зрения качества) среди многих групп населения, особенно в слаборазвитых странах. Парадоксальный факт заключается в том, что, хотя миллионы людей страдают ожирением, гораздо большее их число недоедает. Анализ причин столь ненормального положения дел в глобальном масштабе — прерогатива скорее экономистов, политиков, агрономов, демографов и даже социологов, нежели биологов.

Существует одно нарушение энергетического баланса, называемое «нервной анорексией», не требующее, вероятно, переименования. Уоррен и ван де Виле (Warren, van de Wiele) обозначают данное состояние как «пубертатная голодная аменорея», но этот термин может быть чересчур узким.

Нервная анорексия представляет собой сочетание признаков, симптомов и характерных лабораторных данных, встречающееся главным образом у девочек пубертатного возраста и молодых женщин (хотя изредка и у мальчиков-подростков). Это тяжелое состояние, которое, если его не прервать, может завершиться смертельным исходом. Хотя у каждой больной не обязательно проявляются все признаки синдрома, но обычно имеют место следующие: потеря массы тела, аменорея, запор, брадикардия, низкое артериальное давление, снижение температуры тела, зябкость, повышенная активность, пушок на лице, желтые ладони (гиперкаротинемия) и легкий несахарный диабет.

Существует много психиатрических теорий развития этого состояния, но у таких больных практически не обнаруживаются признаки классических психических расстройств. Действительно, типичная больная — это обычно дочь вполне здоровых родителей, развитая и хорошо (даже отлично) успевающая в учебе девочка. Термин «анорексия», означающий отсутствие желания есть, в данном случае ошибочен, ибо эти молодые люди постоянно думают о еде и создают вокруг нее сложные фантастические ритуалы или ограничивают свою диету только определенными продуктами, к которым часто относятся большие количества моркови, сельдерей, салат и капуста. Нередко периоды низкого потребления пищи сменяются приступами повышенного аппетита и обжорством.

Поразительно, как много проявлений этого заболевания связано с функциями гипоталамуса. Не только нарушение регуляции потребления пищи, но и гипотензия и брадикардия, снижение температуры тела и чувствительность к холоду, аменорея и признаки недостаточности эстрогенов возникают с участием интегрирующих механизмов в гипоталамусе.

Больные нервной анорексией могут напоминать таковых с гипопитуитаризмом, и действительно у них отмечаются низкие уровни ЛГ и ФСГ в плазме, а также ослабленная реакция гонадотропинов на ГнРГ. Однако концентрация глюкокортикоидов в крови у них *повышена*, а реакции в ходе провокационных тестов на АКТГ (например, тест с метирапоном) — нормальны или даже усилены. Содержание тироксина и трииодтиронина обычно ниже нормы; понижена секреция и тиреотропного гормона в ответ на действие тиреолиберина (ТРГ). Таким образом, высокие уровни глюкокортикоидов в крови исключают общую гипофизарную недостаточность. При наступлении ремиссии, которая сопровождается прибавкой массы, секреция гонадотропинов достигает возрастной нормы: у подростков выявляются широкие, связанные со сном колебания, а у взрослых устанавливается уровень, характерный для половозрелых женщин. Реакции на рилизинг-факторы тоже нормализуются. У лиц с резко выраженной недостаточностью питания наблюдаются многие характерные симптомы нервной анорексии; это свидетельствует о причинной роли сознательного подавления физиологических сигналов голода (что затрагивает и другие функции гипоталамуса) в развитии нервной анорексии.

Булимия, подобно нервной анорексии, представляет собой своеобразное, обусловленное самовнушением болезненное состояние, связанное с представлением о своем соответствии общественным вкусам. Стандарт красоты голливудских кинозвезд столь широко принят в США, что некоторые тучные девочки-подростки приучаются контролировать массу своего тела, сознательно вызывая рвоту, обычно после поглощения чересчур обильной пищи. Поразительно, что оценки распространенности такого поведения среди разных групп учениц старших классов и студенток колеблются от 5 до 18%. Некоторые жертвы булимии усугубляют свое состояние приемом слабительных и (или) диуретиков с целью снижения массы тела.

В большинстве случаев булимия — результат привычного поведения. Иногда, как уже отмечалось, она развивается у лиц, у которых позднее возникает нервная анорексия. И то и другое представляет собой следствие сознательных попыток противодействия всему комплексу сформированных веками механизмов приведения потребления пищи в соответствие с энергетическими потребностями.

Проблемы пищевого поведения подробно обсуждены в статье Херцога и Коупланда (Herzog, Copeland).

Литература[1]

Ackerman S. (1983). The management of obesity, Hosp. Pract., March, 117.
Ahrens E. H., Jr. (1984). Obesity and coronary heart disease, New dimensions, Arteriosclerosis, 4, 177.
Andres R., Elahi D., Tobin J. D. et al. (1985). Impact of age on weight goals, Ann. Intern. Med., **103**, 1030.
Björntorp P. (1985). Obesity and the risk of cardiovascular disease, Ann. Clin. Res., **17**, 3.
Björntorp P., de Jounge K., Krotkiewski M. et al. (1973). Physical training in human obesity. III: Effects of long-term physical training on body composition, Metabolism, **22**, 1467.
Björntorp P., Vahouny G., Kritchevsky D. (eds.) (1985). Dietary Fiber and Obesity: Current Topics in Nutrition and Disease, vol. 14. New York, Alan R. Liss.
Bray G. A. (ed.) (1977). Symposium on experimental animal models for the study of obesity, Fed. Proc., **36**, 137.
Bray G. A. (1977). The Zucker-fatty rat: A review, Fed. Proc., **36**, 148.
Brodoff B. N. (1965). Adipose tissue metabolism and obesity, Ann. NY Acad. Sci., **131**, 1.
Curtis-Prior P. B. (ed.) (1983). Biochemical Pharmacology of Obesity, New York, Elsevier North-Holland, Inc.
Czech M. P., Richardson D. K., Smith C. J. (1977). Biochemical basis of fat cell insulin resistance in obese rodents and man, Metabolism, **26**, 1057.
Danforth E., Jr., Desilets E. H., Horton E. S. et al. (1975). Reciprocal serum triiodothyronine (T_3) and reverse (rT_3) induced by altering carbohydrate content of the diet, Clin. Res., **23**, 573A.
Davidson J. K. (1975). Educating diabetic patients about diet therapy, Int. Diabetes Fed. Bull., **20**, 3.
Deter R. L., Liebelt R. A. (1964). Gold thioglucose as an experimental tool, Texas. Rep. Biol. Med., **22**, 229.
DiGirolamo M., Howe M. D., Esposito J. (1974). Metabolic patterns and insulin responsiveness of enlarging fat cells, J. Lipid. Res., **15**, 332.
Durnin J. V. G. A., Edholm O. G., Miller D. S. et al. (1973). How much food does man require? Nature, **242**, 418.
Epstein L. H., Wing R. R., Valoski A. (1985) Childhood obesity, Pediatr. Clin. North. Am., **32**, 363.
Farquhar J. W., Olefsky J., Stern M. et al. (1975). Obesity, insulin, and triglycerides. In: Bray G. A. (ed.). Obesity in Perspective, vol. 2, Fogarty International Center Series on Preventive Medicine, Washington, DC, US Government Printing Office, part 2, p. 313.
Faust I. M., Johnson P. R., Hirsch J. (1979). Adipose tissue regeneration in adult rats, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **161**, 111.
Foster D. W. (1985). Eating disorders: Obesity and anorexia nervosa. In: Wilson J. D., Foster D. W. (eds.). Williams Textbook of Endocrinology, ed. 7. Philadelphia, W. B. Saunders Co., pp. 1081—1107.
Foster W. R., Burton B. T. (eds.) (1985). The problem of obesity (NIH Symposium), Ann. Intern. Med., **103**, 983.
Galloway S. Mc. L., Farquhar D. L., Munro J. F. (1984). The current status of antiobesity drugs, Postgrad. Med. J., 60 (suppl. 3), 19.

[1] См. примечание на с. 40.

Galton D. J., Bray G. A. (1967). Metabolism of α glycerol phosphate in human adipose tissue in obesity, J. Clin. Endocrinol., **27**, 1573.
Geary N., Langhans W., Scharrer E. (1981). Metabolic concomitants of glucagon induced suppression of feeding in the rat, Am. J. Physiol., **241**, R330.
Gruen R., Hietanen E., Greenwood M. R. C. (1978). Increased adipose tissue lipoprotein lipase activity during development of the genetically obese rat (fa/fa), Metabolism, **27** (suppl. 2), 1955.
Herzog D. B., Copeland P. M. (1985). Eating disorders, N. Engl. J. Med., **313**, 295.
Himms-Hagen J. (1984). Thermogenesis in brown adipose tissue as an energy buffer, N. Engl. J. Med., **311**, 1549.
Hirsch J. (1974). Jejunoileal shunt for obesity, N. Engl. J. Med., **290**, 962.
Hirsch J. (1984). Hypothalamic control of appetite, Hosp. Pract., Feb., 131.
Hoebel B. G. (1975). Brain reward and aversion systems in the control of feeding and sexual behavior. In: Jones M. R. (ed.). Nebraska Symposium on Motivation, Lincoln, University of Nebraska Press.
Isaacs A. J., Hoffbrand B. I. (eds.) (1984). Obesity management in the 80s, Postgrad. Med. J., (suppl.), **3**, 60.
Jeanrenaud B. (1985). An hypothesis on the aetiology of obesity: Dysfunction of the central nervous system as a primary cause, Diabetologia, **28**, 502.
James W. P. T. (ed.) (1984). Obesity, Clin. Endocrinol. Metab., **13**, 435.
Keesey R. E., Boyle P. C., Kemnitz J. W. et al. (1976). The role of the lateral hypothalamus in determining the body weight set point. In: Novin D., Wyrwicka W., Bray G. (eds.). Hunger. Basic Mechanisms and Clinical Implications, New York, Raven Press.
Khoo C.-S. (ed.) (1985). Diet, gastrointestinal function, and eating behavior (symposium), Am. J. Clin. Nutr., **42**, 913.
Kissebah A. H. (1985) Characteristics of obese patients with hyperinsulinemia: The importance of body fat distribution. In: Bjoerntorp P., Vahouny G. V., Kritchevsky D. (eds.). Dietary Fiber and Obesity, New York, Alan R. Liss, pp. 1—18.
Lafontan M., Dang-Tran L., Berlun M. (1979). Alpha-adrenergic antilipolytic effect of adrenaline in human fat cells of the thigh. Comparison with adrenaline responsiveness of different fat deposits, Eur. J. Clin. Invest., **9**, 261.
Landsberg L., Young J. B. (1984). The role of the sympathoadrenal system in modulating energy expenditure, Clin. Endocrinol. Metab., **13**, 475.
Leibowitz S. F. (1976). Brain catecholaminergic mechanisms for control of hunger. In: Novin D., Wyrwicka W., Bray G. (eds.). Hunger: Basic Mechanisms and Clinical Implications. New York, Raven Press, pp. 1—18
LeMarchand-Brustel Y., Freychet P. (1978). Studies of insulin insensitivity in soleus muscles of obese mice, Metabolism, 27 (suppl. 2), 1982.
Leonhardt W., Hanefeld M., Schneider H. et al. (1972). Human adipocyte volumes: Maximum size and correlation to weight index in maturity onset diabetes, Diabetologia, **8**, 287.
Lin M. H., Romsos D. R., Akera T. (1978). Na^{+},K^{+}-ATPase enzyme units in skeletal muscle from lean and obese mice, Biochem. Biophys. Res. Commun., **80**, 398.
Mann G. V. (1974). The influence of obesity on health, N. Engl. J. Med., **291**, 178.
Mayer J. (1968). Overweight: Causes, Costs and Control, Englewood Cliffs, New Jersey, Prentice-Hall.
Miller D. S., Mutford P., Stock M. J. (1967). Gluttony: 2. Thermogenesis in overating man, Am. J. Clin. Nutr., **20**, 1223.
Mogenson G. J. (1974). Changing views of the role of the hypothalamus in the control of ingestive behaviors. In: Lederis K., Cooper K. E. (eds.). Recent Studies of Hypothalamic Function, Basel, S. Karger A. G.

Morley J. E., Levine A. S. (1985). The pharmacology of eating behavior, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., **25**, 127.
Morrison S. D. (1977). The hypothalamic syndrome in rats, Fed. Proc., **36**, 139.
Nestel P. J., Whyte H. M. (1968). Plasma free fatty acid and triglyceride turnover in obesity, Metabolism, **17**, 1122.
Nicholl C. G., Polak J. M., Bloom S. R. (1985). The hormonal regulation of food intake, digestion, and absorption, Annu. Rev. Nutr., **5**, 213.
Niijima A. (1969). Afferent impulse discharges from glucoreceptors in the liver of the guinea pig, Ann. NY Acad. Sci., **157**, 690.
Nisbett R. E. (1972). Eating behavior and obesity in men and animals, Adv. Psychosom. Med., **7**, 173.
Oomura Y. (1978). Significance of glucose, insulin, and free fatty acid on the hypothalamic feeding and satiety neurones. In: Novin D., Wyrwicka W., Bray G. (eds.) (1978). Hunger. Basic Mechanisms and Clinical Implications, New York, Raven Press.
Opsahl C. A., Powley T. L. (1974). Failure of vagotomy to reverse obesity in genetically obese Zucker rats, Am. J. Physiol., **236**, 34.
Oscai L. B., McGarr J. A. (1978). Evidence that the amount of food consumed in early life fixes appetite in the rat, Am. J. Physiol., **235**, R141.
Para-Covarrubias A., Rivera-Rodriguez I., Almaraz-Ugalde A. (1971). Cephalic phase of insulin secretion in obese adolescents, Diabetes, **20**, 800.
Plummer D. M., Bray G. A., Garrow J. S. et al. (1985). International symposia on nutrition and obesity: The state of the science, Med. J. Aust., **142**, (special supplement), S1—32.
Powley T. L., Opsahl C. A. (1974). Ventromedial hypothalamic obesity abolished by subdiaphragmatic vagotomy, Am. J. Physiol., **226**, 25.
Rebuffé-Scrive M., Enk L., Crona N. et al. (1985). Fat metabolism in defferent regions in women: Effect of menstrual cycles, pregnancy, and lactation, J. Clin. Invest., **75**, 1973.
Reisin E., Abel R., Modan M. et al. (1978). Effect of weight loss without salt restriction on the reduction of blood pressure in overweight hypertensive patients. N. Engl. J. Med., **298**, 1.
Ricquier D., Mory G. (1984). Factors affecting brown adipose tissue activity in animals and man, Clin. Endocrinol. Metab., **13**, 501.
Salans L. B., Cushman S. W. (1976). Cellular consequences of obesity. In: Bray G. A. (ed.). Obesity in Perspective, Washington, DC. Dept of Health, Education, and Welfare (75—708), p. 245.
Salans L., Knittle J. L. II, Hirsch J. (1983). Obesity, glucose intolerance, and diabetes mellitus. In: Ellenberg M., Rifkin H. (eds.). Diabetes Mellitus: Theory and Practice, ed. 3. New Hyde Park, New York, Medical Examination Publishing Co.
Schachter S. (1968). Obesity and eating, Science, **161**, 751.
Simopoulos A. P. (1985). The health implications of overweight and obesity, Nutr. Rev., 43, 33.
Sims E. A. H. (1979). Syndromes of obesity. In: DeGroot L. J. (ed.). Endocrinology, vol 3, New York, Grune & Stratton, pp. 1941—1962.
Smith G. P., Gibbs J. (1984). Gut peptides and postprandical satiety, Fed. Proc., **43**, 2889.
Smith U., The adipose tissue and the metabolic complications of obesity. In: Bjoerntorp P., Vahouny G. V., Kritchevsky D. (eds.). Dietary Fiber and Obesity, New York, Alan R. Liss, pp. 33—39.
Soll A. H., Kahn C. R., Neville D., Jr. et al. (1975). Insulin receptor deficiency in genetic and acquired obesity, J. Clin. Invest., **53**, 582.
Solow C., Silberfarb P. M., Swift K. (1974). Psychosocial effects of intestinal bypass surgery for severe obesity, N. Engl. J. Med., **290**, 300.
Stern J. S., Johnson P. R.. (1978). Size and number of adipocytes and their implications. In: Katzen H., Mahler R. (eds.). Diabetes, Obesity, and Vascular

Disease: Advances in Modern Nutrition, vol. 2, New York, Hemisphere Press, pp. 303—340.
Stirling J. L., Stock M. J. (1973). Nonconservative mechanisms of energy metabolism in thermogenesis. In: Pfelbaum M. A. (ed.). Energy Balance in Man, Paris, Masson, p. 219.
Straus E., Yalow R. S. (1979). Cholecystokinin in brains of obese and nonobese mice, Science, 203, 68.
Stricker E. M. (1978). Hyperphagia, N. Engl. J. Med., **298**, **1010**.
Stuart R. B. (1975). Behavioral control of eating: A report. In: Obesity in Perspective: Fogarty International Center Series on Preventive Medicine, vol. 2, Washington, DC, U.S. Government Printing Office, p. 367.
Stunkard A. J., Sørensen T. I. A., Harris C. et al. (1986). An adoption study of human obesity, N. Engl. J. Med.,**314**, 193.
Stunkard A. J., Stellar E. (eds.) (1984). Eating and Its Disorders: Res. Publ. Assoc. Res. Nerv. Ment. Dis., vol. 62, New York, Raven Press.
Sullivan A. C., Gruen R. K. (1985). Mechanisms of appetite modulation by drugs, Fed. Proc., **44**, 139.
Ungerstedt U. (1970). Is interruption of the nigrostriatal dopamine system producing the «lateral hypothalamus syndrome?» Acta. Physiol. Scand., **80**, 35A.
Van Itallie T. B. (1986). Bad news and good news about obesity (editorial), N. Engl. J. Med., **314**, **239**.
Warren M. P., Van de Wiele R. L. (1973). Clinical and metabolic features of anorexia nervosa, Am. J. Obstet. Gynecol., **117**, 435.
Wastell C. (1984). The surgical treatment of obesity, Postgrad. Med. J, **60** (suppl., 3), 27.
Weiner W. (1985). Norepinephrine, epinephrine, and the sympathomimetic amines. In: Gilman A. G., Goodman L. S., Rall T. W., et al.: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, New York, Macmillan Publishing Co, pp. 145—180.
Woo R., Daniels-Kush R., Horton E. S. (1985). Regulation of energy balance. Annu. Rev. Nutr., **5**, 411.
Woods S. C., Porte D., Jr. (1976). Insulin and the set point regulation of body weight. In: Novin D., Wyrwicka W., Bray G. A. (eds.). Hunger: Basic Mechanisms and Clinical Implications, New York, Raven Press.
Woods S. C., Porte D. Jr. (1984). The role of peptides in the control of food intake, Excerpta Med. ICS, **655**, 601.
Yim G. K. W., Lowy M. T. (1984). Opioids, feeding, and anorexias, Fed. Proc., **43**, 2893.
York D. A., Bray G. A., Yukimura Y. (1978). An enzymatic defect in the obese (ob/ob) mouse: Loss of thyroid-induced sodium and potassium-dependent adenosine triphosphatase, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **75**, 477.

Часть VIII

ОБМЕН КАЛЬЦИЯ

Глава 17

Гормональный контроль гомеостаза кальция

Некоторые хронологические вехи в изучении регуляции уровня Ca^{2+}

Дата		*Исследователи*
1645	Описан рахит	Уистлер (Whistler)
1880	Описано анатомическое строение паращитовидных желез	Сендстрём (Sandstrom)
1884	Описана тетания со смертельным исходом после тиреоидэктомии у кошек и собак, но не у кроликов	Шифф (Schiff)
1891	Описан гиперпаратиреоз	фон Реклингаузен (von Recklinghausen)
1891	Доказана необходимость удаления паращитовидных желез вместе со щитовидной для воспроизведения тетании	Глей (Gley)
1900	Показано, что удаление только паращитовидных желез (без щитовидной) вызывает судороги и тетанию	Васали (Vasali), Дженерали (Generali)
1909	Показано, что соли кальция после паратиреоидэктомии предотвращают тетанию	МакКаллум (MacCallum), Вёглин (Voegtlin)
1911	Показано, что при паратиреоидэктомии снижается экскреция фосфата с мочой	Гринвальд (Greenwald)
1920	Показано, что рыбий жир или солнечный свет излечивают рахит	Мелланби (Mellanby)
1922	Появился термин витамин D	МакКоллум и др. (McCollum et al.)
1924—1925	Получен первый активный экстракт паращитовидных желез	Хансон (Hanson), Коллип (Collip)
1924	Показано, что облучение животных или продуктов их питания излечивает рахит	Стинбок и др. (Steenbock et al.)
1929	Предложена почечная теория действия паратгормона	Олбрайт (Albright)
1932	Расшифрована структура витамина D_2	Виндаус (Windaus)
1934	Показан (гистологически) прямой эффект экстрактов паращитовидных желез на костную ткань у нефрэктомированных животных	Коллип и др. (Collip et al.)

Продолжение

1942	Показано, что сигналом секреции паратгормона служит изменение концентрации кальция в крови	Патт и Люкхардт (Patt, Luckhardt)
1948	Показано, что подсадки ткани паращитовидных желез к кости оказывают местный прямой декальцинирующий эффект	Барникот (Barnicot)
1955	Данные Барникота подтверждены экспериментами на культуре ткани	Гайллард (Gaillard)
1959	Получены чистые пептиды, обладающие свойствами паратгормона	Расмуссен (Rasmussen), Ауэрбах (Auerbach)
1961	Открыт кальцитонин	Копп (Copp)
1968	Расшифрована аминокислотная последовательность кальцитонина свиньи	Поттс и др. (Potts et al.), Неер и др. (Neher et al.), Белл и др. (Bell et al.), Бисли и др. (Beesley et al.)
1968, ...	Открыты полярные метаболиты витамина D	ДеЛюка (DeLuca), Норман (Norman), Кодичек (Kodicek)
1970, ...	Расшифрована аминокислотная последовательность паратгормона	Бревер (Brewer), Ронан (Ronan), Ниалл (Niall), Поттс и др. (Potts et al.)

Ионам кальция принадлежала важная роль в биологических процессах еще задолго до появления в эволюции костного скелета. У человека поддержание внеклеточной концентрации ионов кальция в узких пределах имеет важнейшее значение для функционирования многих тканей. В *скелетной* и *сердечной* мышце перемещение ионов Ca^{2+} между цитозолем и саркоплазматическим ретикулумом необходимо для сокращения и расслабления (сопряжение между возбуждением и сокращением). При слишком высокой концентрации ионов Ca^{2+} в крови могут возникать аритмии и фибрилляция желудочков сердца. При низком содержании Ca^{2+} в среде возбудимость скелетной мышцы возрастает, а при высоком — угнетается. Эти эффекты обусловлены изменением нейромышечной возбудимости и лежат в основе мышечных спазмов и резкой гиперрефлексии, наблюдаемых при гипокальциемической тетании. Издавна одним из проявлений гипокальциемической тетании считается положительный симптом Хвостека: подергивание мышц лица при надавливании на лицевой нерв в углу нижней челюсти. Ca^{2+} необходим для *секреторной активности* практически всех эндо- и экзокринных железистых клеток (сопряжение стимула и секреции); об этом мы уже говорили в гл. 13 применительно к мозговому слою надпочечников и в одном из разделов гл. 14, посвященном секреции инсулина. Ионы кальция играют ключевую роль и в процессе свертывания крови. Выше подчеркива-

лось значение Ca^{2+} в качестве второго посредника (с участием или без участия кальмодулина). Отмечалась и роль Ca^{2+} в кругообороте полифосфоинозитолов и его активирующее действие на протеинкиназу С. Внутриклеточные эффекты Ca^{2+} либо аналогичны таковым цАМФ, либо противоположны. В любом случае Ca^{2+} занимает важнейшее место в функционировании многих гормональных механизмов, а также центральных и периферических нейронов.

Помимо регуляторной активности, Ca^{2+} — *основной компонент костного скелета*. Основная задача данной главы заключается в рассмотрении природы динамического равновесия между различными органами (желудочно-кишечный тракт, почки, кости и кожа), необходимого для поддержания внеклеточной концентрации Ca^{2+} в узких пределах и в то же время обеспечения скелета необходимым количеством этого иона.

Гомеостаз кальция может нарушаться при различных патологических состояниях. Понимание механизмов его регуляции необходимо для выявления причин таких заболеваний, как гиперпаратиреоз, гипопаратиреоз, остеопороз, болезнь Педжета, остеопетроз, медуллярный рак щитовидной железы, поражения почек, рахит, панкреатит и множество гиперкальциемических состояний. Понятно, что в одной главе нельзя изложить патофизиологию всех этих заболеваний, но отдельные примеры будут приведены.

Обмен кальция и схема гормонального контроля

Концентрация кальция в плазме — 10 мг%, или 5 мЭкв/л. Немногим более половины этого количества находится в ионизированном состоянии; остальная часть (причем бо́льшая) связана с белками, и меньшая с растворенными в крови веществами, такими, как цитрат. Концентрация Ca^{2+} в плазме регулируется с высокой точностью: изменение ее всего на 1% приводит в действие гомеостатические механизмы, восстанавливающие равновесие.

На рис. 17-1 графически представлен обмен кальция у взрослого человека. На рисунке мы стремились отразить 1) количественную сторону обмена Ca^{2+} и 2) роль основных гормонов, влияющих на его обмен. В сутки поглощается примерно 1 г Ca^{2+}, но из этого количества всего лишь около одной трети всасывается в желудочно-кишечном тракте. Общее количество Ca^{2+} во внеклеточных жидкостях организма — тоже около 1 г. Поскольку 0,19 г поступает обратно в просвет кишечника с продуктами его секреции, желчью и слущенными эпителиальными клетками, «чистое» всасывание составляет 0,17 г. Именно такое количество экскретируется за сутки с мочой.

Скелет человека массой 70 кг содержит примерно 1000 г Ca^{2+}, но за сутки с жидкостями организма под контролем гормонов обменивается всего около 0,55 г. В равновесных условиях количества Ca^{2+}, откладывающееся в костях и резорбирующееся из них, эквивалентна. Понятно, что у растущих детей должна происходить задержка Ca^{2+}, пропорциональная росту костей. После 30—40-летнего возраста костная масса прогрессивно уменьшается, так что с годами происходит небольшая постоянная потеря Ca^{2+}.

На рис. 17-1 показаны и три основные гормона, принимающие участие в поддержании гомеостаза Ca^{2+}: паратгормон (ПТГ), кальцитонин и наиболее важный метаболит витамина D — 1,25-дигидроксихолекальциферол [$1,25(OH)_2D_3$]. Действие *ПТГ* направлено на сохранение Ca^{2+} в организме и увеличение его концентрации в жидкостях организма. Эти эффекты ПТГ обусловлены стимуляцией резорбции Ca^{2+} из костей, извлечения Ca^{2+} из клубочкового фильтрата и ускорения образования *$1,25(OH)_2D_3$* в почках. Последний повышает скорость всасывания Ca^{2+} в желудочно-кишечном тракте. Кроме того, он обладает пермиссивным эффектом в отношении действия ПТГ в костях (и, возможно, в почках). *Кальцитонин* ингибирует ре-

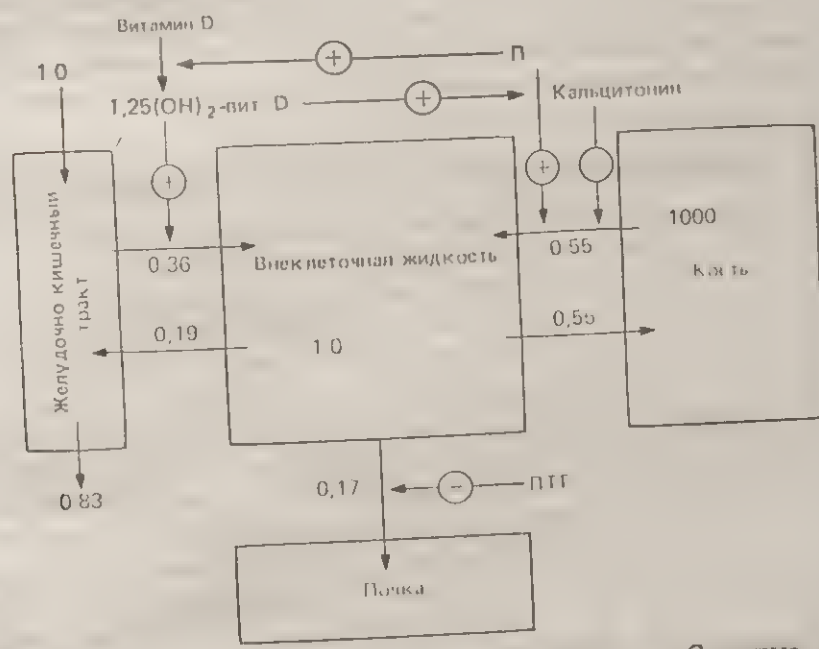


Рис. 17-1. Гормональная регуляция гомеостаза кальция. Сложные эффекты паратгормона на формирование кости (обсуждаемые в тексте) не показаны. ПТГ — паратгормон. [Количественные показатели (граммы) взяты из Auerbach G. D., Marx S. J., Spiegel A. M. (1985). In: Wilson J. D., Foster D. W. (eds), Williams Textbook of Endocrinology, ed. 7, Philadelphia, W. B. Saunders Co.]

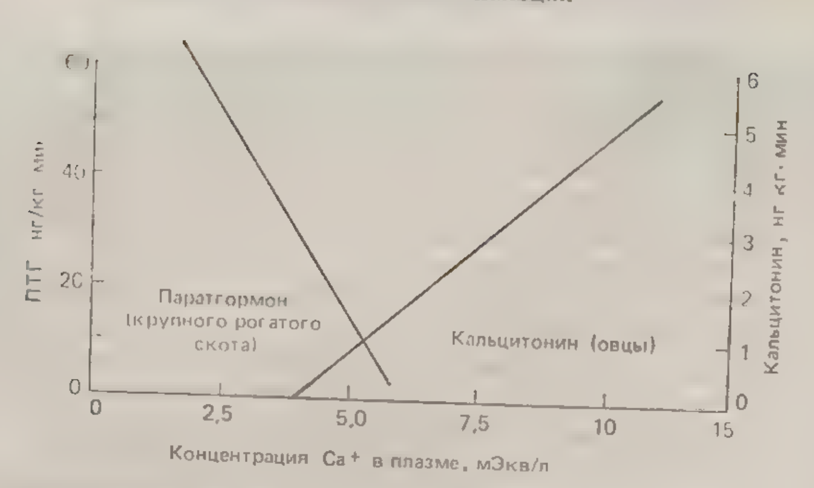


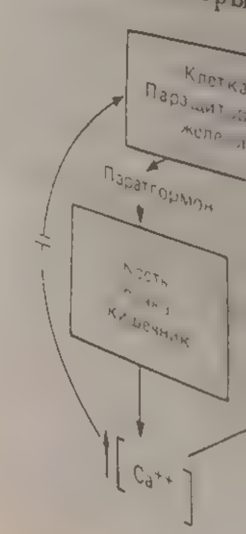
Рис. 17-2. Зависимость скоростей продукции паратгормона и кальцитонина от концентрации Ca^{2+} в плазме крови. (По Copp D. H. (1969). J. Endocrinol., 43, 137, с изменениями.)

зорбцию костей и оказывает другие биологические эффекты (см. ниже). Помимо указанных выше основных гормонов, поддерживающих кальциевый гомеостаз, прямыми или опосредованными эффектами на костную ткань обладают и многие другие гормоны, рассмотренные в предыдущих главах. К ним относятся гормон роста и соматомедин, тиреоидные гормоны, эстрогены, андрогены и инсулин. Кроме того, некоторые гормоны желудочно-кишечного тракта могут принимать участие в регуляции секреции кальцитонина.

Координированный контроль гомеостаза Ca^{2+}

Концентрация Ca^{2+} в сыворотке крови регулируется с высочайшей точностью; она меняется в очень узких пределах. При ее снижении паращитовидные железы увеличивают секрецию паратгормона, в то время как активность клеток, продуцирующих кальцитонин[1], ингибируется. Напротив, при повышении концентрации Ca^{2+} секретируется кальцитонин, а активность паращитовидных желез снижается. Паратгормон повышает концентрацию Ca^{2+} в крови, действуя на кости, кишечник и почки. Кальцитонин снижает ее, действуя главным образом на кости. На рис. 17-2 показано, что при нормальной концентрации Ca^{2+} в крови обе железы продуцируют небольшое количество гормонов; с повышением уровня Ca^{2+} выявляется линейная зависимость между его концентрацией и скоростью секреции кальцитонина. С падением уровня Ca^{2+} возникает обратная зависимость между его концентрацией и скоростью секреции

[1] Кальцитонин образуется в парафолликулярных клетках щитовидной железы. — *Прим. ред.*



ПТГ, т. е. чем ниже концентрация Ca^{2+}, тем выше скорость секреции паратгормона.

Сам Ca^{2+}, являющийся объектом контроля, выступает в роли положительного (кальцитонин) или отрицательного (ПТГ) сигнала собственной регуляции. Железы, контролирующие гомеостаз Ca^{2+}, получают информацию об изменениях его концентрации и соответствующим образом на нее реагируют. Иными словами, когда избыточный уровень Ca^{2+} нормализуется, исчезает стимул, активирующий кальцитонин-секретирующие клетки и тормозящий активность клеток паращитовидных желез. Когда же корригируется гипокальциемия, секреторные клетки получают противоположные сигналы. Рис. 17-3 иллюстрирует исключительную симметричность данной системы. Следует обратить внимание на то, что не известен тропный гормон гипофиза, который регулировал бы активность паращитовидных желез и кальцитонин-секретирующих клеток. Главным регуляторным гормоном в этой системе является паратгормон. Физиологическая роль кальцитонина при нормальных колебаниях концентрации кальция в сыворотке сомнительна (см. ниже). Не исключено, что кальцитонин приобретает важную регуляторную роль только в том случае, когда механизмы сохранения кальция испытывают особую нагрузку, как, например, при беременности и лактации.

Зависимость между уровнем ПТГ в сыворотке и концентрацией кальция в плазме была проанализирована Хабенером, Поттсом и др. (Habener, Potts et al.,), которые обнаружили постепенное линейное возрастание уровня ПТГ при снижении концентрации Ca^{2+} в сыворотке с 10,5 до 9 мг%. При дальнейшем снижении происходило резкое повышение уровня ПТГ до максимума, который регистрировался при концентрации Ca^{2+}

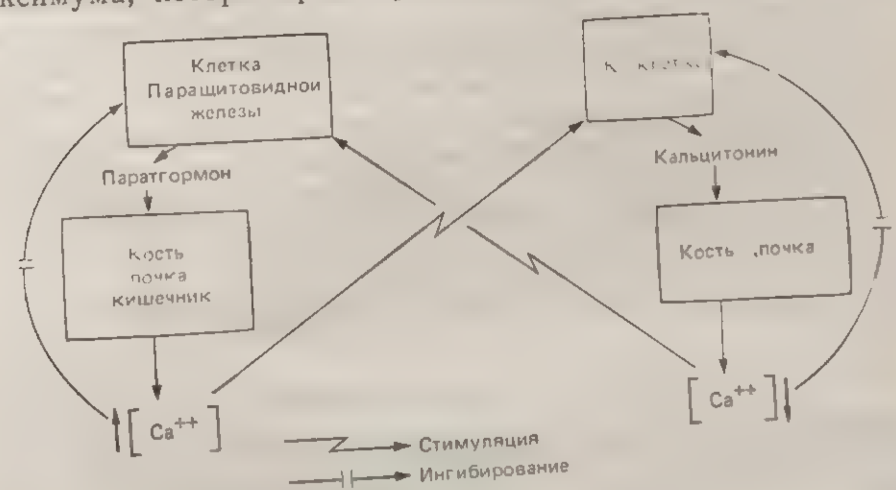


Рис. 17-3. Гормональная регуляция гомеостаза Ca^{2+}.

7 мг%. (На этом уровне концентрация Ca^{2+} в сыворотке поддерживалась без участия ПТГ или кальцитонина.) В интервале концентраций Ca^{2+} 10—15 мг% наблюдалась небольшая постоянная секреция ПТГ, не подавляемая высоким уровнем кальция. Возможно, она обусловлена стимулирующим действием катехоламинов на паращитовидные железы. Существование такой неподавляемой секреции объясняет высокий уровень ПТГ, наблюдаемый при диффузной гиперплазии паращитовидных желез.

Паратгормон

Синтез и секреция

Паратгормон — это белок, состоящий из 84 аминокислотных остатков с мол. массой 9500 (рис. 17-4). Установлена полная аминокислотная последовательность ПТГ человека, расшифрована структура гена этого гормона и выяснена его хромосомная локализация. Аминокислотная последовательность паратгормона человека несколько отличается от таковой других видов, но реакция на этот гормон не обладает видовой специфичностью. Паратгормон синтезируется следующим образом:

Пре-про-ПТГ (115 аминокислот)
↓
Про-ПТГ (90 аминокислот)
↓
ПТГ (84 аминокислоты)

Пре-про-ПТГ впервые был обнаружен при трансляции мРНК паратгормона в бесклеточной рибосомной системе. В клетках паращитовидных желез *пре*-последовательность, состоящая из 25 аминокислот, отщепляется уже в течение нескольких секунд после синтеза 115-аминокислотного пептида. Из 25 аминокислот *пре*-последовательности 20 гидрофобны. Поэтому считают, что растворимая в липидах *пре*-последовательность участвует в транспорте новосинтезированного белка через мембрану эндоплазматического ретикулума в его просвет.

Про-последовательность, состоящая из 6 аминокислотных остатков, как правило, отщепляется в первые 20 мин после синтеза пептида. Некоторое количество про-ПТГ может секретироваться аденомами паращитовидных желез человека, а также другими ПТГ-продуцирующими опухолями.

Регуляция синтеза и распада

Наиболее важный регулятор секреции ПТГ — концентрация Ca^{2+} в сыворотке крови. Механизм регуляции секреции паращитовидных желез в определенном смысле уникален — конт-

ролируется та доля синтезируемого гормона, которая вступает на путь распада. На рис. 17-5 мы стремились показать, каким образом повышенная концентрация Ca^{2+} в сыворотке ведет к распаду более 80% синтезированного гормона, так что для секреции остается всего 20%. При низкой концентрации Ca^{2+} в сыворотке распадается лишь 60% нарабатываемого клеткой ПТГ, а 40% может секретироваться. Как низкая, так и высокая концентрации кальция в конце концов сказываются на образовании мРНК пре-про-ПТГ, но действие высокой концентрации Ca^{2+} на распад синтезированного гормона проявляется гораздо быстрее.

Механизм, посредством которого Ca^{2+} ингибирует секрецию ПТГ, выяснен не полностью. Важную роль играет, вероятно, внутриклеточный распад гормона, обусловленный повышенной концентрацией Ca^{2+} в сыворотке, но объяснить отрицательное влияние Ca^{2+} на секрецию ПТГ только этим процессом нельзя. В обратной ситуации, т. е. при длительном воздействии на клетки паращитовидных желез *низкой* концентрации Ca^{2+}, син-

```
1                                     10
Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn-
                                      20
Leu Gly Lys His Leu Asn Ser Met Glu Arg-
                                      30
Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp-
                                      40
Val His Asn Phe Val Ala Leu Gly Ala Pro-
                                      50
Leu Ala Pro Arg Asp Ala Gly Ser Gln Arg-
                                      60
Pro Arg Lys Lys Glu Asp Asn Val Leu Val
                                      70
Glu Ser His Glu Lys Ser Leu Gly Glu Ala-
                                      80
Asp Lys Ala Asp Val Asn Val Leu Thr Lys-
            84
Ala Lys Ser Gln
```

Рис. 17-4. Аминокислотная последовательность паратгормона человека. Подчеркнут состоящий из 34 аминокислот фрагмент, обладающий полной биологической активностью. (По Keutman H. T., Sauer M. M., Hendy G. M. et al. (1978). Biochemistry, 5723, с изменениями.)

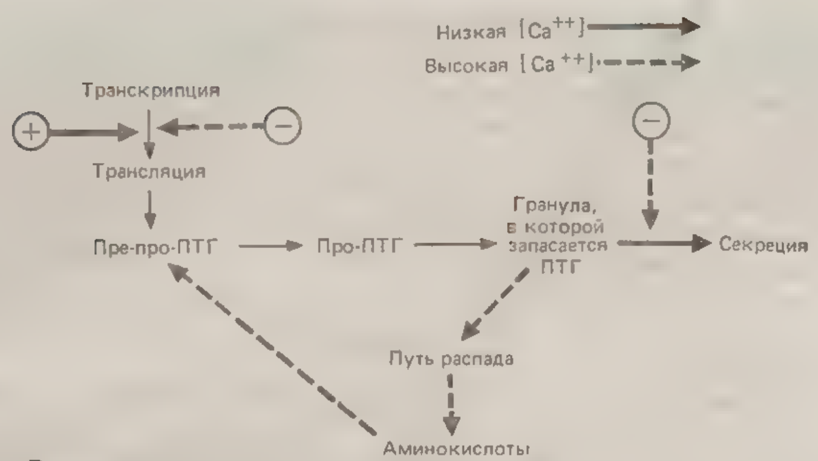


Рис. 17-5. Высокая концентрация Ca^{2+} ингибирует секрецию паратгормона (ПТГ), а также способствует распаду гормона в клетках паращитовидных желез. (По Habener J. F., Rosenblatt M., Potts J. T., Jr. (1984). Physiol. Rev., 64, 985.)

тез гормона возрастает в основном за счет стимуляции митогенеза и пролиферации клеток. Каким образом это происходит — не известно.

Формы ПТГ, циркулирующие в крови, и методы их определения

Хотя существует воспроизводимый биологический метод определения ПТГ, его редко используют для измерения концентрации гормона в крови. С этой целью в основном применяют радиоиммунологический метод. Сильвермен и Ялоу (Silverman, Yalow) описали гетерогенность пептидов ПТГ; при этом они выяснили, что разные антитела распознают, по-видимому, разные фрагменты ПТГ, одни из которых лучше коррелируют с клиническими признаками гиперпаратиреоза, чем другие.

Гетерогенность иммунореактивного ПТГ в крови отчасти объясняется тем, что паращитовидные железы наряду с гормоном, состоящим из 84 аминокислот, секретируют и некоторые продукты его распада. Кроме того, интактный гормон обладает небольшим периодом полураспада в плазме крови (10 мин или менее). Он расщепляется на фрагменты разного размера (главным образом в печени и почках), и некоторые из них определяются в плазме (например, относительно долгоживущий биологически неактивный С-концевой фрагмент). К счастью, его иммунореактивность в достаточной степени соответствует клиническому состоянию большинства обследуемых лиц.

N-концевой пептид с аминокислотной последовательностью 1—34 обладает полной биологической активностью интактного

гормона, хотя человек более чувствителен (если сопоставлять молярные концентрации) к интактному, 84-аминокислотному гормону или к N-концевому пептиду 1—38 (Hesch et al.).

Регуляция секреции ПТГ

Основной регулятор секреторной активности паратиреоидных клеток и синтеза гормона — концентрация Ca^{2+} во внеклеточной жидкости. Подобно Ca^{2+} может действовать и Mg^{2+}, но в гораздо бо́льших концентрациях. Низкая концентрация Ca^{2+} вызывает секрецию и синтез гормона, а высокая — ингибирует оба процесса, хотя и не полностью (см. выше).

Гидроксилированные метаболиты витамина D (которые будут рассмотрены ниже) могут тормозить секрецию ПТГ, но данные по этому вопросу противоречивы. Хотя *кратковременный* ингибиторный эффект метаболитов витамина D на секрецию ПТГ и сомнителен, недавние исследования показали, что при 24—48-часовом культивировании паратиреоидных клеток быка в присутствии наиболее активного метаболита витамина D — $1,25(OH)_2D_3$ — образуется меньшее количество мРНК пре-про-ПТГ (Cantley et al.).

Катехоламины стимулируют секрецию ПТГ через β-рецепторы. Это помогает объяснить сохранение низкой секреции гормона даже в условиях очень высоких концентраций Ca^{2+} в сыворотке, а также причину гиперкальциемии, наблюдаемой при развитии опухолей, продуцирующих катехоламины.

Кортизол увеличивает секрецию ПТГ опосредованно, за счет торможения всасывания Ca^{2+} в кишечнике. Возникающая при этом гипокальциемия и обусловливает повышение секреции гормона.

Увеличение концентрации фосфата в сыворотке крови снижает $[Ca^{2+}]$ и тем самым опосредованно стимулирует секрецию ПТГ. Фосфат не обладает прямым эффектом на ПТГ-секретирующие клетки. Тем не менее при нарушении экскреции фосфата почками наблюдается вторичная стимуляция паращитовидных желез, приводящая к их гипертрофии. (Другие последствия заболеваний почек, влияющие на гомеостаз кальция, рассматриваются в разделе, посвященном витамину D.)

Действительно, любая хроническая стимуляция желез приводит к их гипертрофии и гиперплазии. Механизм, обусловливающий деление клеток, неясен, хотя не исключена роль какого-либо из ростовых факторов, упоминавшихся в связи с гиперплазией надпочечников.

Секреция паратгормона связана с повышением уровня цАМФ в клетках паращитовидных желез. Такое повышение могло бы определяться: 1) падением $[Ca^{2+}]$ или 2) катехол-

аминовой стимуляцией β-рецепторов плазматических мембран. Показано, что аденилатциклаза паратиреоидных клеток гораздо более чувствительна к ингибирующему действию Ca^{2+}, чем фермент, содержащийся в клетках других тканей (Du Frense, Gitelman). Тканевая специфичность фермента прекрасно согласуется с ингибиторным влиянием Ca^{2+} на секрецию ПТГ. В паращитовидных железах существуют два пула ПТГ. Циклический АМФ увеличивает секрецию гормона только из одного, тогда как низкая $[Ca^{2+}]$ — из обоих.

Имеется дополнительный механизм регуляции секреции ПТГ, функционирующий независимо от $[Ca^{2+}]$: он определяет циркадианный ритм секреции гормона, которая повышается в средней трети сна (см. Jubiz et al.). Причины связанного со сном выброса ПТГ не известны, но в этом можно усмотреть биологическую целесообразность, поскольку такие выбросы сохраняют необходимую концентрацию кальция в сыворотке в периоды минимального всасывания его в желудочно-кишечном тракте.

Действие ПТГ на кости, почки и кишечник

Уже тот факт, что ПТГ увеличивает концентрацию Ca^{2+} в сыворотке крови, свидетельствует о возможном действии этого гормона на кости, почки и кишечник. Хотя с количественной точки зрения относительное влияние ПТГ на каждую из этих тканей не выяснено, совокупное его действие на кости, почки и кишечник выражено очень сильно.

Значительную роль в повышающем $[Ca^{2+}]$ эффекте ПТГ играет его действие на *почечные канальцы*. ПТГ стимулирует реабсорбцию Ca^{2+} дистальными канальцами почек. Повышение фракционной реабсорбции Ca^{2+} под действием ПТГ имеет место при любом содержании Ca^{2+} в клубочковом фильтрате. Так, при избытке ПТГ (гиперпаратиреоз) повышение концентрации фильтруемого Ca^{2+} (вследствие его усиленной мобилизации из костей) приводит к увеличению абсолютного количества Ca^{2+} в моче, *несмотря* на повышение его фракционной реабсорбции. Это объясняет частое образование кальциевых камней в почках у больных гиперпаратиреозом.

ПТГ угнетает и реабсорбцию PO_4^{2-} в проксимальных почечных канальцах и последующих отделах нефрона. Это снижает $[PO_4^{2-}]$ в плазме и тем самым способствует мобилизации Ca^{2+} из костей. Напротив, высокая концентрация PO_4^{2-} тормозит резорбцию кости in vitro и способствует формированию костной ткани (Paiz, 1983). Таким образом, влияя на почечные канальцы, ПТГ усиливает свое собственное воздействие на кости.

Другой важный эффект ПТГ заключается в стимуляции образования наиболее активного метаболита витамина D — $1,25(OH)_2D_3$ (см. ниже).

Считают, что ПТГ оказывает на *всасывание Ca^{2+} в кишечнике* косвенный эффект, вызывая превращение витамина D в его активное гидроксилированное производное. Эффект проявляется при достаточном содержании Ca^{2+} в пище. Недостаточность Ca^{2+} в сыворотке способствует всасыванию этого иона следующим образом:

$$\downarrow Ca^{2+} \text{ сыворотки} \longrightarrow \uparrow \text{ПТГ} \longrightarrow \text{Превращение } 25(OH)D_3 \text{ в}$$
$$1,25(OH)_2D_3 \longrightarrow \uparrow \text{Всасывание } Ca^{2+} \text{ в кишечнике.}$$

Еще один эффект (осуществляемый, вероятно, через гиперкальциемию) заключается в усилении секреции кислоты и пепсина в желудке. Поэтому иногда гиперпаратиреоз вызывает пептические язвы.

Действие ПТГ на *костную ткань* крайне сложно и сейчас изучается заново. Издавна, главным образом потому, что гиперпаратиреоз диагностировался лишь на поздних стадиях, подчеркивался в основном резорбирующий эффект ПТГ на кость. С разработкой и широким использованием во многих клинических лабораториях многоканального автоанализатора появилась возможность распознавать многочисленные гиперкальциемические состояния, в том числе и отражающие компенсированную стадию гиперпаратиреоза, т. е. повышенную резорбцию костной ткани с компенсаторным увеличением отложения кальция в костях. В этом состоянии очевидная деминерализация костей отсутствует, несмотря на большое повышение $[Ca^{2+}]$ в сыворотке. В таких условиях Ca^{2+}-сберегающий эффект тех концентраций ПТГ, которые имеют место при достаточном содержании Ca^{2+} в пище, реализуется преимущественно через почки.

Когда гормон присутствует в количествах, необходимых для декальцинирования костей, не только мобилизуется и экскретируется минеральный компонент костной ткани, но и распадается органический матрикс кости, на что указывает возрастание экскреции с мочой гидроксипролина — маркера коллагеновых белков. Таким образом, избыток ПТГ обусловливает потерю как минерального вещества кости, так и органического каркаса, в который оно и откладывается.

В целом эффекты избытка ПТГ можно изобразить так:

$\uparrow Ca^{2+}$ в плазме,
$\downarrow PO_4^{2-}$ в плазме,
$\uparrow Ca^{2+}$ в моче,
$\uparrow PO_4^{2-}$ в моче.

Хотя ПТГ считают гормоном, оказывающим катаболическое действие на кость (в основном потому, что при высоких уровнях ПТГ наблюдается резорбция кости), Парсонс (Parsons) подчеркнул тот факт, что в некоторых условиях ПТГ действует на костную ткань как ростовой гормон, т. е. индуцирует увеличение костной массы. Механизм этого эффекта неясен.

Механизм действия ПТГ

Несмотря на множество экспериментальных исследований, в наших представлениях о клеточном механизме действия ПТГ существуют большие пробелы. Одна из причин этого заключается в гетерогенности клеток-мишеней, на которые действует этот гормон. К ним относятся остеоциты, остеокласты, остеобласты, стволовые клетки кости, а также клетки почечных канальцев, которые реабсорбируют кальций или фосфор из клубочкового фильтрата.

Общий вывод, который можно сделать на основании имеющихся данных, заключается в том, что ПТГ связывается со специфическими рецепторами плазматической мембраны, и это взаимодействие активирует аденилатциклазу с образованием цАМФ. Одновременно стимулируется и поступление кальция в клетку. Действительно, первоначальное *снижение* уровня Ca^{2+} в сыворотке, возникающее после введения ПТГ человеку, и определяется, вероятно, возрастающим захватом кальция ПТГ-чувствительными клетками.

Действие паратгормона на почки

Специфические рецепторы ПТГ, опосредующие его стимулирующее действие на аденилатциклазу, обнаружены как в проксимальных, так и в дистальных почечных канальцах. В основном действие ПТГ на экскрецию Ca^{2+} обусловлено *стимуляцией фракционной реабсорбции этого иона в дистальных канальцах.* (В проксимальных канальцах гормон *снижает* реабсорбцию Ca^{2+}, PO_4^{2-} и HCO_3^-, но это действие перевешивается стимуляцией реабсорбции Ca^{2+} в дистальных канальцах.)

Наоборот, ПТГ *ингибирует реабсорбцию фосфата* как в проксимальных, так и в дистальных канальцах. Этот фосфатурический эффект, описанный еще в 1911 г., лежит в основе снижения концентрации фосфата в плазме под действием ПТГ.

Молекулярные механизмы, опосредующие действие гормона на почечные канальцы, выяснены недостаточно, но они наверняка включают активацию аденилатциклазы на базально-латеральной (контрлюминальной) мембране клеток почечных

канальцев. Образующийся под влиянием гормона цАМФ пересекает клетку и активирует протеинкиназу люминальной мембраны. Это в свою очередь приводит к фосфорилированию одного или нескольких белков, принимающих участие в реабсорбции фосфата.

Другой важный эффект ПТГ на почки заключается в *стимуляции 1-гидроксилирования $25(OH)D_3$ с образованием $1,25(OH)_2D_3$* (наиболее активного метаболита витамина D, подробнее см. ниже). В конечном счете это приводит к стимуляции всасывания Ca^{2+} в кишечнике. Поскольку снижение PO_4^{2-} в сыворотке облегчает мобилизацию Ca^{2+} из костей, каждый из трех эффектов ПТГ на почки способствует повышению $[Ca^{2+}]$ в сыворотке.

Действие паратгормона на костную ткань

Хотя механизму действия ПТГ на костную ткань посвящено множество исследований, он до сих пор изучен недостаточно. Главная трудность здесь заключается, вероятно, в том, что кость состоит из гетерогенной популяции высокоспециализированных клеток. Это не позволяет отнести наблюдаемые эффекты на счет той или иной клеточной популяции даже в экспериментах с культурами костных фрагментов. Кроме того, в кости существует динамическое равновесие процессов образования и резорбции. Эти процессы влияют друг на друга, так что первичное воздействие, например, на резорбцию может вторично стимулировать процессы костеобразования.

При введении гормона in vivo мобилизация Ca^{2+} и компонентов костного матрикса сопровождается быстрыми изменениями остеокластов, остеобластов и остеоцитов. Уже в первые 30 мин заметно увеличивается поверхность гофрированной каемки прилежащих к кости остеокластов. При этом из кости усиленно высвобождается *гидроксипролин* — важнейший компонент коллагена матрикса. Поскольку при синтезе коллагена на уровне трансляции используется пролин (гидроксилирование осуществляется в процессе посттрансляционной модификации), гидроксипролин не может повторно использоваться в синтезе белка и поэтому служит показателем распада коллагена. Даже по экскреции гидроксипролина с мочой можно судить о распаде коллагена.

При длительной стимуляции возрастает *количество* остеокластов, а затем и остеобластов (костеобразующих клеток).

Исследования эффектов ПТГ на фрагменты кости in vitro показали, что гормон повышает уровень цАМФ и (на очень ранних этапах своего действия) поглощение Ca^{2+}. Рецепторы ПТГ обнаружены на остеобластах, но наличие их на остеокла-

стах остается сомнительным, несмотря на резкие морфологические изменения этих клеток, возникающие при введении гормона. В ряде опытов влияние ПТГ на изолированные остеокласты, если только они не инкубировались совместно с остеобластами, показано не было (например, Chambers, 1984).

Согласно одной правдоподобной, хотя и недоказанной, гипотезе, под влиянием ПТГ остеобласты начинают вырабатывать какой-то активатор остеокластов, изменяющий морфологию и биохимию последних таким образом, что они приобретают способность разрушать кость. В ответ на действие ПТГ из кости выделяются протеолитические ферменты (некоторые, вероятно, лизосомного происхождения) и органические кислоты (лактат, цитрат). Полагают, что основная причина резорбции кости — сочетание локального сильного закисления среды с действием ферментов, имеющих оптимум pH в кислой среде, хотя и остеокласты способны фагоцитировать и переваривать кусочки кости. Немедленные эффекты гормона не зависят от синтеза РНК и белка, но для полного проявления эффекта больших доз ПТГ на резорбцию кости требуется синтез новых мРНК и белков.

Механизмы увеличения количества остеокластов при длительном действии ПТГ неизвестны, но гормон может стимулировать локальную продукцию митогенного ростового фактора.

Заболевания, связанные с дефицитом и избытком ПТГ

Хотя здесь и не место описывать заболевания паращитовидных желез, важно подчеркнуть, что современный прогресс в понимании биологии паратиреоидной системы находит все большее отражение в диагностике и лечении заболеваний этих желез.

Гиперпаратиреоз

Гиперпаратиреоз может быть связан с гипертрофией и гиперплазией всех четырех паращитовидных желез или вызываться опухолью, обычно аденомой. Нередко у больных с аденомами паращитовидных желез обнаруживается аденоматозный рост и других эндокринных желез, особенно щитовидной. Иногда избыточные количества паратгормона продуцируются опухолью, локализующейся вне паращитовидных желез. (Выше мы уже рассматривали аналогичную ситуацию, когда обсуждали синтез и секрецию АДГ и АКТГ опухолями.)

Раньше при описании больных гиперпаратиреозом подчеркивалась выраженная деминерализация скелета с частыми деформациями длинных костей. В настоящее время гиперпара-

тиреоз обычно диагностируют по результатам определения концентрации кальция в сыворотке крови с помощью автоматического многоканального анализатора и соответствующего радиоиммунологического метода определения ПТГ.

Теперь известно, что могут существовать компенсированные состояния гиперпаратиреоза, при которых патологически повышенный уровень кальция в сыворотке регистрируется в отсутствие видимого снижения плотности костей. Как и в отношении АДГ и альдостерона, о которых речь шла выше, одновременное определение гормона и регулируемого им параметра (в данном случае ПТГ и уровня Ca^{2+} в сыворотке) может дать больше полезной информации, нежели определение каждого из этих показателей порознь.

Постоянно повышенный уровень кальция в клубочковом фильтрате способствует образованию почечных камней. У всех людей, страдающих мочекаменной болезнью, следовало бы подозревать гиперпаратиреоз. Другие состояния, часто сопутствующие гиперпаратиреозу, — это гипертония и язвенная болезнь. Последняя может быть связана с повышенной секрецией гастрина, спровоцированной гиперкальциемией.

Одна из наиболее характерных особенностей гиперпаратиреоза — частое проявление нейромышечных и нейропсихических нарушений. Нередко имеет место мышечная слабость и атрофия мышц, но сенсорные нарушения отсутствуют. Кроме того, могут наблюдаться депрессия, нарушения памяти, трудности в концентрации внимания и даже изменения личности. Для хронической гиперкальциемии, независимо от того, связана ли она с гиперпаратиреозом или нет, характерны изменения электроэнцефалограммы.

Поскольку гиперпаратиреоз лечат хирургическим путем, хирургу важно знать анатомическую локализацию источника избыточного гормона. Значительную помощь в этом оказывают такие новые методы предоперационного обследования больного, как термография, компьютерная аксиальная томография, радиоизотопное сканирование, артериография и селективная катетеризация вен для последующего радиоиммунологического определения ПТГ с помощью специфических антител. Интересующийся читатель может обратиться к публикации Эйзенберга и Паллота (Eisenberg, Pallotta).

Гипопаратиреоз

Дефицит паратгормона может быть следствием различного рода оперативных вмешательств в области шеи или иметь разнообразные идиопатические причины. Гипокальциемия повышает нейромышечную возбудимость. В относительно легких

случаях могут наблюдаться лишь парестезии, но в более тяжелых развивается тетания с мышечными спазмами или даже с конвульсиями. Если гипокальциемия выявляется только с помощью многоканального анализатора, она практически никогда не является результатом гипопаратиреоза. Гипопаратиреоз диагностируют по снижению уровня кальция в сыворотке и отсутствию ПТГ в доступных определению концентрациях.

Псевдогипопаратиреоз

Это состояние характеризуется нечувствительностью органов-мишеней к избыточному количеству ПТГ. Оно представляет собой редкое наследственное заболевание, аналогичное ареактивности по отношению к другим гормонам. Так, гипокальциемия, обусловленная неспособностью клеток-мишеней реагировать на ПТГ, вызывает гипертрофию и гиперплазию паращитовидных желез подобно тому, как при адреногенитальном синдроме возникает гиперсекреция АКТГ (см. гл. 11).

Известен ряд форм псевдогипопаратиреоза. При одной из них выявляется дефект комплекса рецептор-ПТГ-аденилатциклаза, в результате в почках не образуется цАМФ в ответ на действие паратгормона. У некоторых больных может иметь место дефект самого рецептора ПТГ, тогда как у других отмечается дефицит G_c-белка, функционально связывающего рецептор с аденилатциклазой (см. Akita et al.). У больных третьей группы цАМФ образуется, но дальнейшей биологической реакции препятствует какой-то иной генетический дефект.

Кальцитонин

Кальцитонин был открыт Коппом в 1961 г. О существовании этого гормона свидетельствовали опыты на собаках, у которых удаление щитовидной и паращитовидных желез сопровождалось недостаточностью не только тиреоидных гормонов, но и вещества, снижающего уровень Ca^{2+} в сыворотке. В последующих экспериментах Копп перфузировал щитовидную и паращитовидные железы собаки кровью с высокой концентрацией Ca^{2+} и показал, что перфузат при введении другой собаке *снижает* уровень Ca^{2+} в сыворотке. Вскоре активное начало, вызывающее гипокальциемию, было выделено, очищено и названо кальцитонином. Очень быстро была установлена его аминокислотная последовательность, расшифрован путь биосинтеза и проведено сравнение структуры этого вещества у разных видов (Copp, 1967, 1969).

Известна аминокислотная последовательность кальцитонина пяти видов млекопитающих, включая человека (рис. 17-6),

а также других животных (некоторых лососевых и угря). Как правило, кальцитонины животных, не относящихся к млекопитающим, проявляют бо́льшую биологическую активность у крыс и человека, чем их собственные гормоны. Это может быть следствием резистентности таких кальцитонинов к разрушению. Большая литература по сравнительной биологии кальцитонина свидетельствует о том, что у филогенетически более древних видов он может обладать функциями, не связанными с регуляцией уровня кальция.

Химическая структура

Кальцитонин представляет собой пептид, состоящий из 32 аминокислот (см. рис. 17-6). Он синтезируется и секретируется К-клетками (парафолликулярными) щитовидной железы, происходящими из нервного гребешка. У некоторых видов, включая человека, небольшое количество К-клеток может быть обнаружено в ткани паращитовидных желез и тимуса. Кальцитонин секретируется также и опухолевыми клетками щитовидной железы (в случае К-клеточной аденокарциномы), равно как и других опухолей, возникающих вне щитовидной железы. Недавно с помощью усовершенствованного радиоиммунологического метода (Parthemore, Deftos) было установлено, что содержание кальцитонина у человека в норме колеблется от 5 до 100 пг/мл.

Синтез и секреция

Подобно другим полипептидным гормонам кальцитонин синтезируется в виде более крупного предшественника, который постепенно расщепляется до показанного на рис. 17-6 гормона, состоящего из 32 аминокислот. Кальцитонин в основном

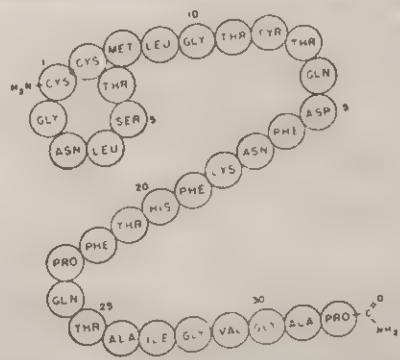


Рис. 17-6. Аминокислотная последовательность кальцитонина человека. (По Neher R. et al. (1968). Nature, 220, 984.)

запасается в секреторных гранулах парафолликулярных, или светлых, клеток. В крови обнаруживается не только мономер иммунореактивного кальцитонина, но и димер (возможно, имеются и другие формы, пока точно не идентифицированные).

Продукт транскрипции гена кальцитонина заслуживает внимания потому, что в разных тканях его процессинг может осуществляться по-разному. В К-клетках образуется мРНК кальцитонина, но в центральной нервной системе из того же первичного транскрипта образуется иная мРНК, кодирующая вещество, называемое *пептид, определяемый геном кальцитонина* (calcitonin gene related peptide). Действие этого пептида в центральной нервной системе и в периферических органах активно изучается (Rosenfeld). Интересная концепция, иллюстрируемая приведенным примером, заключается в том, что по мере дифференцировки определенная клетка может менять экспрессию гена путем иного процессинга транскрипта, по сравнению с другой клеткой, где происходит считывание того же гена.

Основные стимулы секреции кальцитонина — это, во-первых, *повышенный уровень кальция в сыворотке крови* и, во-вторых, некоторые гормоны желудочно-кишечного тракта, особенно гастрин.

Секреция кальцитонина, обусловленная повышением уровня кальция в сыворотке, наблюдается только при *значительном* увеличении этого уровня. До сих пор не удалось показать, что нормальные колебания концентрации Ca^{2+} в сыворотке, которые уже отчетливо влияют на секрецию ПТГ, сколько-нибудь заметно сказывались бы на секреции кальцитонина.

Данные Купера и др. (Cooper et al.), согласно которым секрецию кальцитонина можно активировать пероральным приемом кальция, не вызывающим видимых изменений его концентрации в сыворотке, подтверждают мнение о том, что $[Ca^{2+}]$ (при колебаниях в пределах нормы) не относится к числу основных сигналов секреции кальцитонина. Это еще раз показывает, что эндокринные клетки кишечника функционируют как «упреждающие» сигнализаторы, подобно тому, что отмечалось в гл. 14. По сути дела, секретирующие гастрин клетки «ощущают» Ca^{2+} в кишечном содержимом и ставят кальцитонин-секретирующие клетки в известность о всасывании этих ионов. Поступающий в кровь Ca^{2+} «встречается» с кальцитонином, защищающим организм от алиментарной гиперкальциемии. В это время секреция ПТГ ослаблена, и поэтому фракционная реабсорбция фильтруемого кальция в нефроне также низка, что позволяет почкам участвовать в поддержании нормального уровня Ca^{2+} в сыворотке.

Биологическое действие гормона

Наиболее явный эффект кальцитонина заключается в *ингибировании резорбции костей*, что показано на интактных животных и человеке, а также на культуре костной ткани. Кальцитонин тормозит выход органических веществ из костного матрикса, равно как и минеральных компонентов кости. Это приводит к снижению уровня гидроксипролина, кальция и фосфата в среде. Эффект легче всего наблюдать в условиях высокой скорости обмена костной ткани (т. е. при ускорении *как* резорбции, *так* и костеобразования), что имеет место у молодых, растущих животных и людей.

Регуляторное значение этих эффектов у взрослых людей сомнительно по ряду причин:

1) у здоровых лиц наблюдается лишь транзиторный эффект кальцитонина;

2) после тиреоидэктомии уровень кальция в плазме надежно поддерживается в пределах нормы;

3) в условиях избыточных концентраций кальцитонина (например, при медуллярном раке щитовидной железы) плотность костной ткани практически не меняется.

Если по поводу роли кальцитонина в поминутной регуляции уровня Ca^{2+} в жидкостях организма мнения специалистов расходятся, то, судя по последним данным (Heath, Sizemore), кальцитонин может оказывать долговременный эффект на обмен кальция и плотность кости. Хит и Сайзмор показали, что у мужчин базальный уровень кальцитонина, как и его секреция в ответ на введение кальция (или пентагастрина), выше, чем у женщин. Поскольку у женщин возрастной остеопороз (снижение плотности костной ткани) встречается чаще, чем у мужчин, не исключено, что одной из причин этого заболевания может быть и относительная недостаточность кальцитонина. Однако, хотя и имеются сообщения об относительном снижении как базального так и обусловленного стимуляцией уровней кальцитонина у людей с остеопорозом, все же эти данные не нашли широкого подтверждения (Tiegs, 1985).

Уровень кальцитонина повышается у беременных и кормящих женщин, и это свидетельствует о физиологической роли кальцитонина в защите организма матери от избыточных потерь Ca^{2+}.

Кальцитонин обладает и небольшим фосфатурическим эффектом, который вносит свой вклад в снижение концентрации фосфата в плазме. Это трудно согласовать с эффектом кальцитонина на кости, поскольку, как отмечалось в случае ПТГ, снижение уровня фосфата в плазме способствует мобилизации

Ca^{2+} из костей. Провозглашенная Кенноном «мудрость организма» подчас непостижима!

Один из удивительных эффектов кальцитонина заключается в *торможении секреции гастрина.* Поскольку гастрин стимулирует секрецию кальцитонина, а кальцитонин тормозит секрецию гастрина, предполагается, что кальцитонин может играть какую-то пока неизвестную роль в переваривании и всасывании пищи. В любом случае связь между кальцитонином и гастрином имеет существенное значение, и гастрин (или его активное пентапептидное производное — пентагастрин) применяется при тестировании способности к секреции кальцитонина. Как правило, при введении кальция или пентагастрина уровень кальцитонина в плазме повышается одинаково. Подобные провоцирующие секрецию тесты полезны в исследованиях, примером которых могут служить опыты Хита и Сайзмора (см. выше), а также для диагностики медуллярного рака щитовидной железы (К-клеточная аденокарцинома) или других кальцитонинпродуцирующих опухолей.

Хотя физиологическое значение кальцитонина остается под вопросом, нет сомнений в его лечебном действии, особенно при болезни Педжета. Характерный для этого заболевания резко повышенный кругооборот костного вещества под влиянием кальцитонина нормализуется.

Положительный эффект кальцитонина при остеопорозе пока не доказан, но этот гормон находит применение в терапии больных с гиперкальциемией различной природы.

Клеточный механизм действия кальцитонина

Легче всего обнаружить действие кальцитонина на многоядерные фагоциты костной ткани — остеокласты. Кальцитонин — мощный, хотя и транзиторный, ингибитор остеокластов. Он уменьшает протяженность гофрированной каемки (показатель фагоцитарной активности) на этих клетках уже через несколько минут после введения. При болезни Педжета, когда резко ускорены *как* резорбция кости, *так и* костеобразование, кальцитонин оказывает длительный и выраженный эффект на остеокласты. Это во многом объясняет положительное действие кальцитонина при лечении данного заболевания.

Подобно множеству других пептидных гормонов, кальцитонин взаимодействует со специфическим рецептором на мембранах клеток-мишеней. Активируемые кальцитонином аденилатциклазные комплексы обнаруживаются не в тех участках почечных канальцев, где расположены рецепторы ПТГ. Поскольку рецепторы этих двух гормонов находятся на клетках разного типа, не удивительно, что и кальцитонин, и ПТГ в качестве второго посредника используют цАМФ.

В *костной ткани* рецепторы кальцитонина найдены только на *остеокластах* (т. е. там, где рецепторы ПТГ, по-видимому, отсутствуют). И здесь активируется аденилатциклаза, хотя эти клетки реагируют на ПТГ, как отмечалось выше, лишь косвенно. Поэтому старый вопрос о том, каким образом ПТГ и кальцитонин, действуя через один и тот же цАМФ, оказывают на кость противоположные эффекты, предположительно объясняется влиянием этих двух гормонов на разные клетки-мишени.

В экспериментах in vitro постоянное добавление кальцитонина (как и других пептидных гормонов) приводит к десенситизации клеток-мишеней в костной ткани. Поэтому при таких состояниях, как болезнь Педжета и гиперкальциемия, целесообразно вводить гормон с перерывами.

Витамин D и его производные

Уже в 1645 г. было сделано достаточно полное клиническое описание рахита, но причина этого заболевания выяснилась лишь после того, как Мелланби (Mellanby) создал его экспериментальную модель на собаках (см. Landmarks). Мелланби воспроизвел рахит путем содержания животных на определенных диетах и показал возможность предотвращения или компенсации этого заболевания с помощью рыбьего жира. Позднее МакКоллум и др. (McCollum et al.) обнаружили жирорастворимое вещество, предотвращающее рахит, которое они назвали витамином D, затем Стинбок и др. (Stienbock et al.) показали, что подобную активность приобретает и пища при облучении содержащихся в ней стеролов in vitro. Активное вещество было очищено и идентифицировано в 1937 г., в период золотого века биохимии стероидов. В последние годы новые сведения о витамине D стерли грань между витаминами и гормонами, так как оказалось, что активные формы витамина, образуемые по ходу ряда метаболических превращений стероида, присутствующего в больших количествах в коже, обладают многими эффектами стероидных гормонов.

Важно подчеркнуть, что прогресс в выяснении путей метаболизма и действия витамина D обусловил быстрое улучшение диагностики и лечение больных с нарушениями гомеостаза кальция. Клиницисты получили возможность по-новому оценивать не только недостаточность витамина D, но и нарушение минерализации костей, наблюдаемое при хронических заболеваниях почек. Более того, в настоящее время можно объяснить ряд клинических синдромов, имеющих собирательное название рахита, резистентного к витамину D.

Химическая структура и метаболизм

Человек, подвергающийся действию ультрафиолетовых солнечных лучей, не нуждается в витамине D. Неиссякаемый источник провитамина D—7-дегидрохолестерола — содержится в коже, где при облучении он превращается в витамин D_3, или холекальциферол. Растительный стерол — эргостерол — при облучении превращается в витамин D_2 (эргокальциферол) и служит основным источником витамина D, добавляемого в продукты питания, такие, как молоко. Значительные количества витамина D обнаружены в печени многих рыб.

В результате тонких исследований, проведенных в последнее десятилетие группами ДеЛюка, Кодичека, Нормана (DeLuca, Kodicek, Norman), а также многими другими авторами, расшифрован путь превращения холекальциферола или эргокальциферола в их биологически активные метаболиты. Холекальциферол транспортируется в печень, где гидроксилируется по 25-му атому углерода с образованием $25(OH)D_3$. Эта реакция осуществляется в эндоплазматическом ретикулуме и требует НАДФ·Н, молекулярного кислорода и ионов Mg^{2+}, а также цитохрома Р-450 (но не того, который участвует в метаболизме фармакологических веществ). Реакция ингибируется конечным продуктом, но гидроксилирование по 25-му атому углерода обычно не считают главным пунктом регуляции метаболизма D_3, поскольку введение больших доз витамина D_3 приводит к образованию и больших количеств $25(OH)D_3$. Активность первого продукта гидроксилирования в отношении профилактики лечения рахита в 2—5 раз выше, чем самого D_3. Он представляет собой основную форму витамина, циркулирующую в крови и связанную с транспортным белком (мол. масса 51 000), как и другие стероидные гормоны. Интересно, что этот белок, относящийся к α-глобулинам, связывает $25(OH)D_3$ в большей степени, чем сам D_3 или продукты его дальнейшего метаболизма, такие, как $1,25(OH)_2D_3$.

Содержащийся в крови $25(OH)D_3$ можно рассматривать как второй источник витаминной активности. Сам по себе $25(OH)D_3$ — еще не активная форма витамина, так как его физиологические концентрации не стимулируют всасывания Ca^{2+} в желудочно-кишечном тракте нефрэктомированных животных или людей с тяжелыми хроническими поражениями почек. Почки обладают способностью к дальнейшему гидроксилированию $25(OH)D_3$ с образованием одного из трех соединений (рис. 17-7):

1) $1,25(OH)_2D_3$,
2) $24,25(OH)_2D_3$,
3) $1,24,25(OH)_3D_3$.

Рис. 17-7. Метаболиты витамина D и места их синтеза. (По DeLuca H. F. (1984). In: Kumar R. (ed), Vitamin D: Basic and Chemical Aspects, Boston, Martinus Nijhoff, p. 1, с изменениями).

Именно 1,25$(OH)_2D_3$ представляет собой активную форму витамина D. При биологических испытаниях он примерно в 10 раз активнее витамина D_3, причем его активность сохраняется и при нефрэктомии. Гидроксилирование 25$(OH)D_3$ по первому атому углерода происходит в митохондриях; для этой реакции необходимы НАДФ·Н, молекулярный кислород, ионы магния, цитохром Р-450 и флавопротеин. Таким образом, гидроксилирование 25$(OH)D_3$ полностью аналогично гидроксилированию промежуточных метаболитов стероидных гормонов, протекающему в коре надпочечников, а также в яичниках, желтом теле и семенниках.

Почки способны гидроксилировать 25$(OH)D_3$ и по 24-му атому углерода. Если в желудочно-кишечном тракте всасыва-

ется достаточное количество Ca^{2+} (т. е. при нормальном содержании витамина D), то преобладает именно этот путь метаболизма $25(OH)D_3$. Гидроксилирование по 24-му атому углерода приводит к образованию $24{,}25(OH)_2D_3$, который обладает слабой противорахитной активностью. Функция этого соединения пока не установлена; вероятно, оно может тормозить секрецию ПТГ по механизму обратной связи (рис. 17-8). Между гидроксилированием $25(OH)D_3$ по первому и 24-му атомам углерода существуют реципрокные отношения, т. е. при необходимости сохранения Ca^{2+} преобладает гидроксилирование по первому атому углерода, а при отсутствии дефицита Ca^{2+} — по 24-му. Полагают, что гидроксилирование по 24-му атому углерода облегчает инактивацию стероида в печени и последующую его экскрецию с желчью. Таким образом, выбор участка гидроксилирования $25(OH)D_3$ в почках представляет собой главный регуляторный механизм переключения во всей системе. Природа регуляции этого переключения будет рассмотрена ниже.

Было показано, что $24{,}25(OH)_2D_3$, который обладает гораздо меньшей биологической активностью, чем $1{,}25(OH)_2D_3$, полностью утрачивает ее при нефрэктомии. Это в свою очередь способствовало открытию тригидроксилированного соедине-

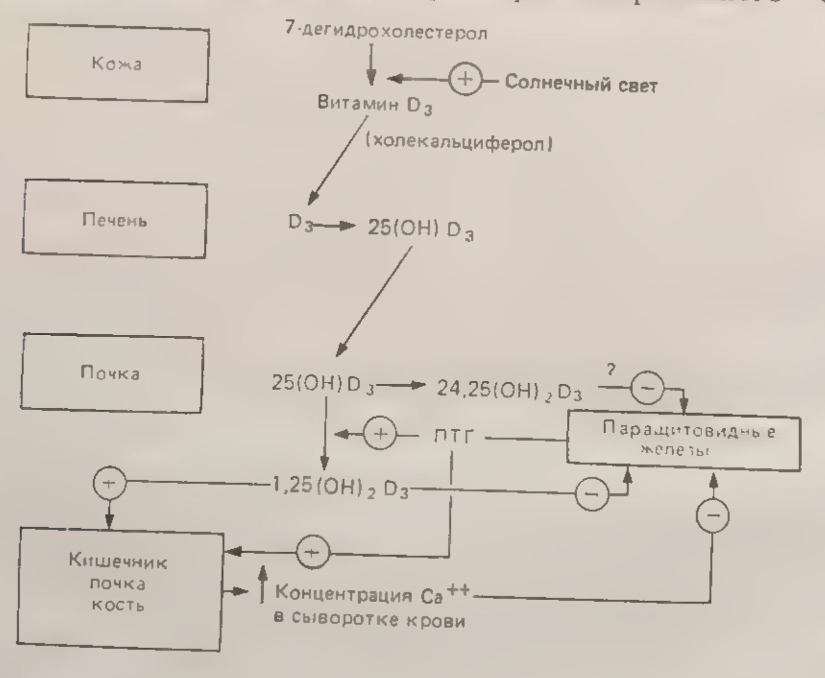


Рис. 17-8. Регуляция метаболизма витамина D паратгормоном (ПТГ). Содержащийся в пище витамин D_2 метаболизируется в соответствии с приведенной схемой.

ния — 1,24,25$(OH)_3D_3$ — менее активного, чем 1,25$(OH)_2D_3$, которое, скорее всего, и предназначено для инактивации в печени и экскреции. В любом случае в количественном отношении его значение невелико.

Подобно стероидным гормонам, активный метаболит витамина D инактивируется в печени, а продукты инактивации связываются с глюкуронидом и секретируются преимущественно в желчь. В организме боковая цепь отщепляется, и часть радиоактивности боковой цепи может определяться в выдыхаемом CO_2.

Регуляция гидроксилирования 25(OH)D_3 в почках

Основным объектом регуляции метаболизма 25$(OH)D_3$ служит реакция гидроксилирования по первому атому углерода. При низкой концентрации Ca^{2+} в сыворотке она стимулируется, а реакция гидроксилирования по 24-му атому углерода ингибируется. При концентрации Ca^{2+}, равной 10 мг%, наблюдается обратная ситуация. Паратгормон (секреция которого возрастает в условиях низкого содержания Ca^{2+}) стимулирует гидроксилирование 25$(OH)D_3$ по первому атому углерода в почках. Это может быть обусловлено тем, что ПТГ снижает концентрацию фосфата в сыворотке, так как показано, что при этом гидроксилирование по первому атому углерода ускоряется даже в отсутствие паращитовидных желез (Tanaka, DeLuca). Вероятно, опосредованное цАМФ действие ПТГ на клетки почечных канальцев может вызывать и снижение внутриклеточной концентрации фосфата из-за торможения его реабсорбции.

Роль метаболитов витамина D в регуляции секреции ПТГ все еще не ясна. Возможно, витамин D оказывает долговременное и косвенное ингибиторное действие на синтез и секрецию ПТГ, изменяя всасывание Ca^{2+} и PO_4^{2-} в кишечнике.

Клеточные эффекты и механизмы действия метаболитов витамина D_3

При недостаточности витамина D минерализация костей нарушается в основном из-за слабого всасывания Ca^{2+} и PO_4^{2-} в кишечнике. Метаболиты витамина D способствуют повышению концентрации Ca^{2+} в сыворотке и, действуя синергично с ПТГ, облегчают мобилизацию минеральных компонентов из костной ткани. Хотя количественно оценить действие витамина D на почки достаточно трудно, почки, несомненно, содержат рецепторы этого витамина, а также продуцируют кальцийсвязывающий белок под действием 1,25$(OH)_{23}D$ (см. ниже).

В *кишечнике* 1,25$(OH)_2D_3$ способствует всасыванию Ca^{2+}

(согласно общей модели действия стероидных гормонов, описанной в гл. 2).

Как в случае эстрогенов и других стероидов, нет единого мнения по вопросу о том, является ли свободный рецептор цитозольным или ядерным. В любом случае *связанный* с гормоном рецептор в ядре избирательно стимулирует транскрипцию некоторых генов с образованием специфических мРНК, а также тРНК и рРНК. Однако в настоящее время не исключается и возможность начальной стимуляции всасывания Ca^{2+} *без* синтеза новых РНК и белков (Wasserman, 1984, 1985). Механизм этого эффекта неясен.

Всасывание кальция включает по меньшей мере три этапа: 1) захват Ca^{2+} ворсинчатой (люминальной) поверхностью клетки, 2) внутриклеточный транспорт и 3) выброс кальция через базально-латеральную (контрлюминальную) мембрану. По крайней мере один из индуцируемых $1,25(OH)_2D_3$ белков — это белок ворсинчатой поверхности клетки. Среди белков, индуцируемых витамином D, наиболее изучен *кальций-связывающий белок*, локализованный в цитозоле и осуществляющий, вероятно, перенос Ca^{2+} в эпителиальной клетке кишечника. Молекулярный механизм «выброса» Ca^{2+} через базально-латеральную клеточную мембрану изучен недостаточно. Одна из гипотез сводится к тому, что витамин D координированно индуцирует синтез белков, принимающих участие на всех трех стадиях процесса всасывания Ca^{2+}.

Другой важный эффект витамина D на клетки кишечника заключается в *повышении всасывания фосфата*. Обнаружено увеличение всасывания фосфата эксплантатами кишечника цыпленка уже в первые 30 мин после добавления $1,25(OH)_2D_3$ (Marx et al.). Молекулярный механизм этого эффекта неизвестен.

Большинство специалистов в настоящее время считают, что основной эффект витамина D на костную ткань — это обеспечение ее Ca^{2+} и PO_4^{2-} за счет стимуляции их всасывания в кишечнике. Помимо этого, активные метаболиты витамина D оказывают и прямое действие на клетки кости, а именно на остеобласты, которые в отличие от остеокластов имеют рецепторы $1,25(OH)_2D_3$ (Raisz, 1984; Bell, а также Skjodt). Подобно ПТГ, $1,25(OH)_2D_3$ уменьшает синтез коллагена остеобластами и стимулирует резорбцию кости остеокластами. Последний эффект (как и в случае ПТГ), по всей вероятности, осуществляется косвенно.

В 1961 г. было обнаружено, что витамин D *увеличивает реабсорбцию фосфата в почках* (Harrison, Harrison). Возникли разногласия относительно того, прямой ли это эффект или опосредованный (через снижение уровня ПТГ за счет стимуляции

всасывания Ca^{2+} в желудочно-кишечном тракте). Дальнейшие исследования показали, что витамин D непосредственно воздействует на почечные канальцы (Costanzo, 1974; Kurnik, Hruska, 1984). При этом реабсорбция Ca^{2+} в канальцах тоже увеличивается. Таким образом, действие $1{,}25(OH)_2D_3$ на почки, подобно его эффекту на кишечный эпителий, направлено на обеспечение и сохранение непрерывного притока в организм минеральных веществ для отложения в костях.

Одним из проявлений недостаточности витамина D служит мышечная слабость. Полагают (см. Birge, Hadad), что определенный метаболит витамина D [$25(OH)D_3$, но не $1{,}25(OH)_2D_3$] стимулирует биохимические процессы в скелетных мышцах. До сих пор неизвестно, оказывает ли витамин D прямой эффект на мышечную ткань или это его действие опосредовано изменением концентрации электролитов во внеклеточной жидкости.

Патофизиология некоторых нарушений метаболизма кальция и фосфора, связанных с витамином D

Врожденные нарушения метаболизма

В зонах умеренного климата суточная потребность в витамине D для профилактики рахита составляет 400 МЕ (10 мг). Для некоторых людей этого может быть недостаточно; им иногда требуются фармакологические дозы витамина. Кальципения, или недостаточность кальция, может определяться либо дефицитом витамина D, либо нарушением функции каких-то компонентов клеточной и тканевых систем, реагирующих на витамин D. Кальципения возникает, например, в следующих случаях:

1) при нарушении превращения витамина D в $1{,}25(OH)_2D_3$;

2) при высокой скорости распада или обмена метаболитов витамина D;

3) при нарушении чувствительности органов-мишеней к витамину D.

В последнем случае ситуация аналогична той, которая была описана выше применительно к ареактивности органов-мишеней (тестикулярная феминизация, псевдогипопаратиреоз, адреногенитальный синдром).

Рахит может вызываться и дефицитом фосфата. Разнообразные токсические поражения почечных канальцев или их врожденные дефекты приводят к тому, что фосфат не реабсорбируется из клубочкового фильтрата и, следовательно, теряется организмом. В этом случае, несмотря на нормальный уровень кальция в сыворотке, нарушается минерализация костей (такие состояния называют первичной гипофосфатемией).

В результате первичной кальципении может развиваться и вторичная гипофосфатемия. В запущенных случаях недостаточности витамина D у человека возникает следующая цепь событий: гипокальциемия → повышение уровня ПТГ в крови → → фосфатурия → снижение уровня фосфата в плазме. Таким образом, если гипофосфатемия сопровождается высоким уровнем иммунореактивного ПТГ, то она, по всей вероятности, возникла вторично по отношению к гипокальциемии. Если же уровень ПТГ не повышен, гипофосфатемия имеет, скорее всего, почечное происхождение, т. е. является первичной.

При состоянии, известном как «наследственная недостаточность витамина D» (см. Fraser, Scriver), проявляются все признаки рахита, но отсутствует реакция организма на обычные дозы витамина D. При этом состоянии уровень $25(OH)D_3$ в крови чрезмерно высок, заболевание не поддается лечению $25(OH)D_3$, но успешно лечится введением $1,25(OH)_2D_3$ в дозах 1 мкг в сутки или менее. Следовательно, у таких больных снижена способность к гидроксилированию $25(OH)D_3$ по первому атому углерода. Однако если в таких случаях вводить витамин D_3 в дозах, в 100—300 раз превышающих нормальную потребность (1000—3000 мкг в сутки), могут наблюдаться признаки выздоровления от рахита. Иными словами, образование необходимого количества $1,25(OH)_2D_3$ может обеспечиваться лишь при введении в систему огромного количества предшественника. Это состояние можно диагностировать уже в первые недели жизни и предотвратить его развитие соответствующим лечением.

Наследственная резистентность к $1,25(OH)_2D_3$ может иметь различные формы (Marx et al., 1984); подобные ситуации мы рассматривали ранее при обсуждении тестикулярной феминизации и псевдогипопаратиреоза. У некоторых больных, несмотря на дефект рецепторов, все же проявляется кальциемическая реакция на некоторые аналоги кальциферола, тогда как у других такой реакции вообще невозможно добиться. По-видимому, сложная реагирующая система включает несколько белков, гены которых могут подвергаться мутации.

Приобретенные нарушения функции витамина D

Остеомаляция, вызываемая противосудорожными средствами

При лечении детей, страдающих эпилепсией, противосудорожными препаратами (например, дифенилгидантоином) у них может развиться остеомаляция, напоминающая рахит. Показано, что такие вещества обусловливают резистентность органов-мишеней (кишечника и костей) к действию витамина D (Haynes, Murad).

Деминерализация костей под действием стероидных гормонов

В гл. 11 отмечалось, что уменьшение костной массы — характерный признак как спонтанно возникающего, так и ятрогенного синдрома Кушинга. Вызываемая стероидами остеопения чаще всего встречается у детей и женщин постменопаузального возраста и в наибольшей степени затрагивает трабекулярные кости, т. е. позвонки и ребра.

Фармакологические дозы глюкокортикоидов воздействуют на на скелет различными путями: 1) уменьшают синтез органического матрикса кости остеобластами; 2) тормозят превращение клеток-предшественников в остеобласты; 3) противодействуют (неконкурентно) эффекту витамина D на всасывание кальция в кишечнике и 4) повышают уровень ПТГ в сыворотке, действуя непосредственно на паращитовидные железы.

Таким образом, фармакологические дозы глюкокортикоидов тормозят процесс костеобразования и стимулируют резорбцию костей как косвенно (путем нарушения всасывания Ca^{2+}), так и прямо (путем изменения секреции ПТГ), индуцируя гиперпаратиреоидное состояние. Имеются данные о том, что разумное применение витамина D (в относительно больших дозах) и дополнительно Ca^{2+} может приостановить или ликвидировать стероидную остеопению.

Поражения костей при хронических заболеваниях почек

Хотя истончение костей при хронических заболеваниях почек имеет чрезвычайно сложные причины, недавно полученные данные о метаболизме витамина D в определенной степени объясняют это явление. У людей с тяжелыми хроническими поражениями почек уровень $1,25(OH)_2D_3$ в крови снижен, тогда как содержание 25(OH)D может быть низким, нормальным или повышенным. Создается впечатление, что нарушается превращение 25(OH)D в $1,25(OH)_2D_3$, и в силу этого снижается всасывание Ca^{2+}. Ситуация может усугубляться содержанием в крови большого количества тех промежуточных продуктов синтеза витамина D_3, которые сами по себе не обладают биологической активностью, но способны конкурентно ингибировать действие активных метаболитов на клетки кишечника. При уремии уровень $1,25(OH)_2D_3$ в крови снижен, несмотря на повышенное содержание ПТГ, обусловленное гипокальциемией. Для терапевтического применения при уремической остеодистрофии перспективен не только $1,25(OH)_2D_3$, но и $1\alpha(OH)D_3$, который в печени может гидроксилироваться по 25-му атому углерода (см. Brickman et al.; Peacock et al.).

Печень и витамин D

Выше отмечалось, что в печени происходит: 1) гидроксилирование холекальциферола по 25-му атому углерода, 2) инактивация витамина D_3 путем гидроксилирования с образованием неактивных интермедиатов и синтеза полярных конъюгатов и 3) экскреция метаболитов витамина D с желчью.

Обнаружено понижение уровня 25(OH)D_3 в крови больных с различными поражениями печени (Long et al.). Это сопровождается выраженной остеопенией, которая связана, вероятно, не только с недостаточностью гидроксилирования провитамина D_3 в печени, но и с другими причинами. Например, у таких больных снижена продукция соматомедина. В случае же алкогольного цирроза печени может иметь место прямое цитотоксическое влияние алкоголя на костную ткань и кишечник.

Влияние других гормонов на костную ткань и гомеостаз кальция

Основные гормоны, регулирующие метаболизм костной ткани и гомеостаз кальция, — это паратгормон, витамин D и в меньшей степени кальцитонин. Однако в регуляции роста кости то или иное участие принимают почти все другие гормоны, медиаторы и модуляторы, которые рассматривались в предыдущих главах. Краткий их перечень должен подчеркнуть тот факт, что процессы обмена веществ в целостном организме человека или животного регулируются сложным комплексом взаимосвязанных механизмов.

Простагландины

Простагландины, особенно $ПГЕ_1$, снижают фосфатурическую реакцию клеток почечных канальцев на ПТГ, но не на дб-цАМФ; в этом отношении реакция на ПТГ сходна с другими реакциями, опосредуемыми цАМФ, которым противодействует $ПГЕ_1$. Однако в культуре костной ткани $ПГЕ_1$ имитирует эффект ПТГ и вызывает резорбцию кости (Raisz). Данное свойство $ПГЕ_1$ позволяет лучше понять причину гиперкальциемии, развивающейся при метастазировании различных типов опухолей в кости. Показано, что гиперкальциемия в этом случае обусловлена продукцией простагландина костными метастазами опухоли с последующей резорбцией окружающей костной ткани (Tashjian et al.).

Глюкокортикоиды

Ряд эффектов глюкокортикоидов на метаболизм кальция и кость обсуждался выше в связи с витамином D. Следует подчеркнуть, что низкие дозы глюкокортикоидов необходимы для роста костей. Они тормозят рост костей только в том случае, когда их избыточная продукция сохраняется длительное время, т. е. при спонтанной или ятрогенной болезни Кушинга. Помимо всех перечисленных выше эффектов, глюкокортикоиды тормозят образование соматомедина в печени.

Эстрогены и андрогены

Эстрогены и андрогены принимают участие в механизмах бурного роста в пубертатном периоде и закрытия эпифизарных щелей. В детстве и в период полового созревания как эстрогены, так и андрогены обеспечивают преобладание процессов костеобразования над резорбцией, но механизм этого эффекта неизвестен. У взрослых женщин эстрогены тормозят резорбцию костей, и ряд исследователей считает, что эти гормоны замедляют или приостанавливают развитие постменопаузального остеопороза.

Тиреоидные гормоны

Как отмечалось выше, тиреоидные гормоны играют весьма важную роль в процессах развития и роста костей в младенческом и детском возрасте. Действительно, отчетливый признак гипотиреоза — это отставание костного возраста, о чем судят по степени развития центров окостенения. При избытке тиреоидных гормонов (например, при гипертиреозе) отмечается стимуляции как костеобразования, так и резорбции костей, причем последний процесс активируется в большей степени, чем первый.

Инсулин

Недостаточность инсулина у детей сопровождается задержкой роста. Механизм этого эффекта мало изучен, но он может отражать общие нарушения обмена веществ, характерные для дефицита инсулина, т. е. напоминать отставание в росте, обусловленное недостаточностью питания.

Глюкагон

Глюкагон оказывает своеобразное, но пока плохо охарактеризованное действие на кость. Он может стимулировать секре-

цию кальцитонина, а также тормозить резорбцию кости в культуре ткани. Физиологическое значение этих явлений не ясно.

Гормон роста

Гормон роста оказывает выраженное действие на рост костей, опосредованное *соматомедином*, который необходим для деления и функционирования хондроцитов. Образование соматомедина требуется для нормального роста в детском возрате. У взрослых избыток гормона роста вызывает резкую деформацию костей, которая обусловлена ускорением процессов образования и в меньшей степени резорбции костной ткани.

Все эти взаимосвязанные механизмы регуляции функционируют в условиях, зависящих от *питания* и степени *физической активности*. К факторам диеты относятся не только кальций и фосфор, но и общая калорийность, достаточность белка и дополнительные компоненты пищи. На значение физической нагрузки указывает тот факт, что у здоровых людей в условиях строгого постельного режима резорбция костей преобладает над костеобразованием и быстро развивается отрицательный баланс кальция.

Литература[1]

Akita Y., Saito T., Yajima Y. et al. (1985). The stimulatory and inhibitory guanine nucleotide-binding proteins of adenylate cyclase in erythrocytes from patients with pseudohypoparathyroidism Tepe I, J. Clin. Endocrinol. Metab., **61**, 1012.

Auerbach G. D., Marx S. J., Spiegel A. M. (1985). Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols. In: Wilson J. D., Foster D. W. (eds). Williams Textbook of Endocrinology, ed. 7, Philadelphia, W. B. Saunders Co., p. 1137.

Auerbach G. D., Marx S. J., Spiegel A. M. (1985). Metabolic bone disease. In: Wilson J. D., Foster D. W. (eds.). Williams Textbook of Endocrinology, ed. 7, Philadelphia, W. B. Saunders Co., p. 1218.

Bell N. H. (1985). Vitamin D-endocrine system, J. Clin. Invest., **76**, 1.

Bienkowski R. S. (1983). Intracellular degradation of newly synthesized proteins, Biochem. J., **214**, 1.

Birge S. J., Haddad J. G. (1975). 25 (OH)D stimulation of muscle metabolism, J. Clin Invest., **56**, 1100.

Brickman A. S., Coburn J. W., Masry S. G. (1974). $1,25(OH)_2D_3$ in normal man and in patients with renal failure, Arch. Intern. Med., **80**, 161

Brommage R., DeLuca H. F. (1985). Evidence that 1,25-dihydroxyvitamin D_3 is the physiologically active metabolite of vitamin D_3, Endocr. Rev., **6**, 491.

Cantley L. K., Russell J., Lettieri D. et al. (1985). 1,25-dihydroxy vitamin D_3 suppresses parathyroid hormone secretion from bovine parathyroid cells in tissue culture, Endocrinology, **117**, 2114

Chambers T. J., Athanasou N. A., Fuller K. (1984). Effect of parathyroid hormone

[1] См. примечание на с. 40.

and calcitonin on the cytoplasmic spreading of isolated osteoclasts, J. Endocrinol., **102**, 281.

Chambers T. J., McSheehy P. M. J., Thomson B. M. et al. (1985). The effect of calcium-regulating hormones and prostaglandins on bone resorption by osteoclasts disaggregated from neonatal rat bones, Endocrinology, **116**, 234.

Cooper C. W., Schwesinger W. H., Malgoub A. M. et al. (1971). Thyrocalcitonin: Stimulation of secretion by gastrin, Science, **172**, 1238.

Coop D. H. (1969). Endocrine control of calcium homeostasis, J. Endocrinol., **43**, 137.

Costanzo L. S., Sheehe P. R., Weiner I. M. (1974). Renal actions of vitamin D in D-deficient rats, Am. J. Physiol., **226**, 1490.

DeLuca H. F. (1984). The metabolism, function, and physiology of vitamin D. In: Kumar R. (ed.). Vitamin D: Dasic and Clinical Aspects, Boston, Martinus Nijhoff, p. 1.

Eisenberg H., Pallotta J. A. (1979). Special localizing techniques for parathyroid disease. In: DeGrott L. J. et al. (eds.). Endocrinology, vol. 2, New York, Grune and Stratton, pp. 717—724.

Fraser D., Scriver C. R. (1979). Hereditary disorders associated with vitamin D resistance of defective phosphate metabolism. In: DeGroot L. J. et al. (eds.). Endocrinology, vol. 2, New York, Grune & Stratton, pp. 797—807.

Greenberg P. B., Foyle E. H., Fisher M. T. et al. (1974). Treatment of Paget's disease of bone with synthetic human calcitonin. Biochemical and roentgenologic changes, Am. J. Med., **56**, 867.

Habener J. F., Rosenblatt M., Potts J. T., Jr. (1984). Parathyroid hormone: Biochemical aspects of biosynthesis, secretion, action, and metabolism, Physiol. Rev., **64**, 985.

Hahn T. J., Hendin B. A., Scharp C. et al. (1972). Effect of chronic anticonvulsant therapy on serum 25 hydroxycholecalciferol levels in adults, N. Engl. J. Med., **287**, 900.

Harrison H. E., Harrison H. C. (1964). The interaction of vitamin D and parathyroid hormone on calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis in the rat, Metab. Clin. Exp., **13**, 952.

Haussler M. R., McCain T. A. (1977). Basic and clinical concepts related to vitamin D metabolism and action, N. Engl. J. Med., **297**, 974.

Heath H. III, Sizemore G. W. (1977). Plasma calcitonin in normal man: Difference between men and women, J. Clin. Invest., **60**, 1135.

Hesch R. D., Heck J., Auf'mKolk B. et al. (1984). First clinical observations with hPTH (1—38), a more potent human parathyroid hormone peptide, Horm. Metab. Res., **16**, 559.

Haynes R. C., Jr., Murad F. (1985). Agents affecting calcification: Calcium, parathyroid hormone, calcitonin, vitamin D, and other compounds. In: Gilman A. G., Goodman L. S., Rall T. W. et al (eds.). Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics, ed. 7, New York, Macmillan Publishing Co., p. 1517.

Jubiz W., Canterbory J. M., Reiss J. M. (1972). Circadian rhythm in PTH concentration in human subjects: Correlations with serum calcium, phosphate, albumin and growth hormone levels, J. Clin. Invest., **51**, 2040.

Keutmann H. T., Sauer M. M., Hendy G. N. et al. (1978). Complete amino acid sequence of human parathyroid hormone, Biochemistry, 5723.

Kleeman K. E., Kleeman C. R. (1985). Parathyroid hormone and calcitonin. In: Ingbar S. H. (ed.). Contemporary Endocrinology, vol. 2, New York, Plenum Publishing Corp., p. 247.

Kronenberg H. M., Hellerman J., Igarashi T. et al. (1984). Structure and expression of the human parathyroid hormone gene. In: Labrie F., Proulx L. (eds.). Endocrinology, Excerpta Medica ICS 655, p. 263.

Kurkeja S. C., Hargis G. K., Rosenthal I. M. et al. (1973). Pheochromocytoma causing excessive parathyroid hormone production and hypercalcemia, Ann. Intern. Med., **79**, 838.

Kurnik B. R. C., Hruska K. A. (1984). Effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol on phosphate transport in vitamin D-deprived rats, Am. J. Physiol., **247**, F177.
Leggate J., Farish E., Fletcher C. D. et al. (1984). Calcitonin and postmenopausal osteoporosis, Clin. Endocrinol. (Oxf.), 20, 85
Marx S. J., Liberman U. A., Eil C. (1983). Calciferols: Actions and deficiencies in action, Vitam. Horm., **40**, 235.
Marx S. J., Liberman U. A., Eil C. et al. (1984). Hereditary resistance to 1,25-dihydroxy vitamin D, Recent. Prog. Horm. Res., **40**, 589.
Wayer E., Kadiwaki S., Williams G. et al. (1984). Mode of action of 1,25 dihydroxy vitamin D. In: Kumar R. (ed.). Vitamin D: Basic and Clinical Aspects, Boston, Martinus Nijhoff, p. 260.
Parsons J. A., Neer R. M., Potts J. T., Jr. (1971). Initial fall in plasma calcium after intravenous injection of parathyroid hormone, Endocrinology, **89**, 735.
Peck W., Gennari C., Raisz L. et al. (1984). Corticosteroids and bone (roundtable discussion), Calcif. Tissue. Int., **36**, 4.
Pike J. W. (1985). Intracellular receptors mediate the biologic action of 1,25-dihydroxy vitamin D_3, Nutr. Rev., **43**, 161.
Raisz L. G. (1983). Mechanisms of parathyroid hormone-mediated bone loss, Excerpta Medica ICS 617.
Raisz L. G. (1983). Regulation of bone formation, N. Engl. J. Med., **309**, 29 and 83.
Raisz L. G. (1984). Studies on bone formation and resorption in vitro, Horm. Res., **20**. 22.
Rodan G. A., Rodan S. B., Majeska R. J. et al. (1984). The effect of parathyroid hormone on bone cells, Excerpta Medica ICS 655, p. 583.
Rosenfeld M. G., Amara S. G., Evans R. M. (1984). Tissue specific patterns of RNA processing: Regulation and developmental specificity of neuroendocrine gene expression, Excerpta Medica ICS 655, p. 923.
Russell J., Silver J., Sherwood L. M. (1984). The effects of calcium and vitamin D metabolites on cytoplasmic mRNA coding for pre-proparathyroid hormone in isolated parathyroid cells, Trans. Assoc. Am. Physicans., **97**, 296.
Skjodt H., Gallagher J. A., Beresford J. H. et al. (1985). Vitamin D metabolites regulate osteocalcin synthesis and proliferation of human bone cells in vitro, J. Endocrinol., **105**, 391.
Smith D. M., Johnston C. C., III (1975). Cyclic 3′5′ adenosine monophosphate levels in separated bone cells, Endocrinology, **96**, 1261.
Swaminathan R., Bates R. F. L., Bloom S. R. et al. (1973). The relationship between food, gastrointestinal hormones, and calcitonin secretion, J. Endocrinol., **59**, 217.
Tiegs R. D., Body J. J., Wahner H. W. et al. (1985). Calcitonin secretion in postmenopausal osteoporosis, N. Engl. J. Med., **312**, 1097.
Wasserman R. H., Fullmer G. S., Shimura F. (1984). Calcium absorption and the molecular effects of vitamin D_3. In: Kumar R. (ed.). Vitamin D: Basic and Clinical Aspects, Boston, Martinus Nijhoff, p. 233
Wasserman R. H. (1985). Vitamin D action, Nurt. Rev., **43**, 127.

Список сокращений

АДГ — антидиуретический гормон
дб-цАМФ — дибутирил-цАМФ
цАМФ — циклический аденозинмонофосфат
цАМФ-ПК — цАМФ-зависимая протеинкиназа
АКТГ — адренокортикотропный гормон (кортикотропин)
ГАМК — гамма-аминомасляная кислота
цГМФ — циклический гуанозинмонофосфат
ГнГР — гонадотропин-рилизинг-гормон (гонадолиберин)
ГР — гормон роста (соматотропный гормон)
ГР-РГ — ГР-рилизинг-гормон (соматолиберин, соматокринин)
ГСИК — гормон, стимулирующий интерстициальные клетки
ДГ — диацилглицерол
ДГТ — дигидротестостерон
ЖИП — желудочный ингибиторный пептид
КРГ — кортикотропин-рилизинг-гормон (кортиколиберин)
КРФ — кортикотропин-рилизинг-фактор
ЛГ — лютеинизирующий гормон
ЛПЛ — липопротеинлипаза
β-ЛПГ — β-липотропин
ЛПВП — липопротеины высокой плотности
ЛПНП — липопротеины низкой плотности
ЛПОНП — липопротеины очень низкой плотности
ЛППП — липопротеины промежуточной плотности
МРВ-А — медленно реагирующее вещество анафилаксии
МСГ — меланоцитстимулирующий гормон
НАС — нестероидные антивоспалительные средства
ПГ — простагландины
ПИФ — пролактин-ингибирующий фактор (пролактостатин)
ПК — протеинкиназа
ПЛ — плацентарный лактоген
ПНФ — предсердный натриуретический фактор

ПОМК — проопиомеланокортин
ПРЛ — пролактин
ПРГ — пролактин-рилизинг-гормон (пролактолиберин)
ПРФ — пролактин-рилизинг-фактор
ПТГ — паратгормон
Р — рецептор
РФТ — ростовой фактор из тромбоцитов
С — стероид
СТГ — соматотропный гормон (гормон роста)
СЖК — свободные жирные кислоты
T_3 — трииодтиронин
T_4 — тироксин
ТГ — тиреоидные гормоны
ТРГ — тиреотропин-рилизинг-гормон (тиреолиберин)
ТТГ — тиреотропный гормон (тиреотропин)
ФИМ (ФИМП) — фактор, ингибирующий мюллеров проток
ФСГ — фолликуло-стимулирующий гормон
ХГ — хорионический гонадотропин
ХЦК — холецистокинин
ЭФР — эпидермальный фактор роста

Предметный указатель

Оглавление

Часть III. НЕЙРОЭНДОКРИНОЛОГИЯ

Часть IV. ЭНДОКРИНОЛОГИЯ РАЗМНОЖЕНИЯ

Часть V. ЩИТОВИДНАЯ ЖЕЛЕЗА

Часть VI. НАДПОЧЕЧНИКИ

Часть VIII. ОБМЕН КАЛЬЦИЯ

Уважаемый читатель!

Ваши замечания о содержании книги, ее оформлении, качестве перевода и другие просим присылать по адресу:

129820, Москва, И-110, ГСП, 1-й Рижский пер., д. **2**, издательство **«Мир»**.

Учебное издание

Джей Теппермен, Хелен М. Теппермен

ФИЗИОЛОГИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

Заведующий редакцией чл.-корр. АН СССР Т. М. Турпаев. Зам. зав. редакцией М. Д. Гроздова. Научный редактор М. А. Серова. Мл. редактор Р. Ф. Куликова. Художник А. Д. Евстратов. Художественные редакторы А. Я. Мусин, Л. М. Аленичева. Технический редактор Т. А. Мирошина. Корректор Т. И. Стифеева

ИБ № 6919

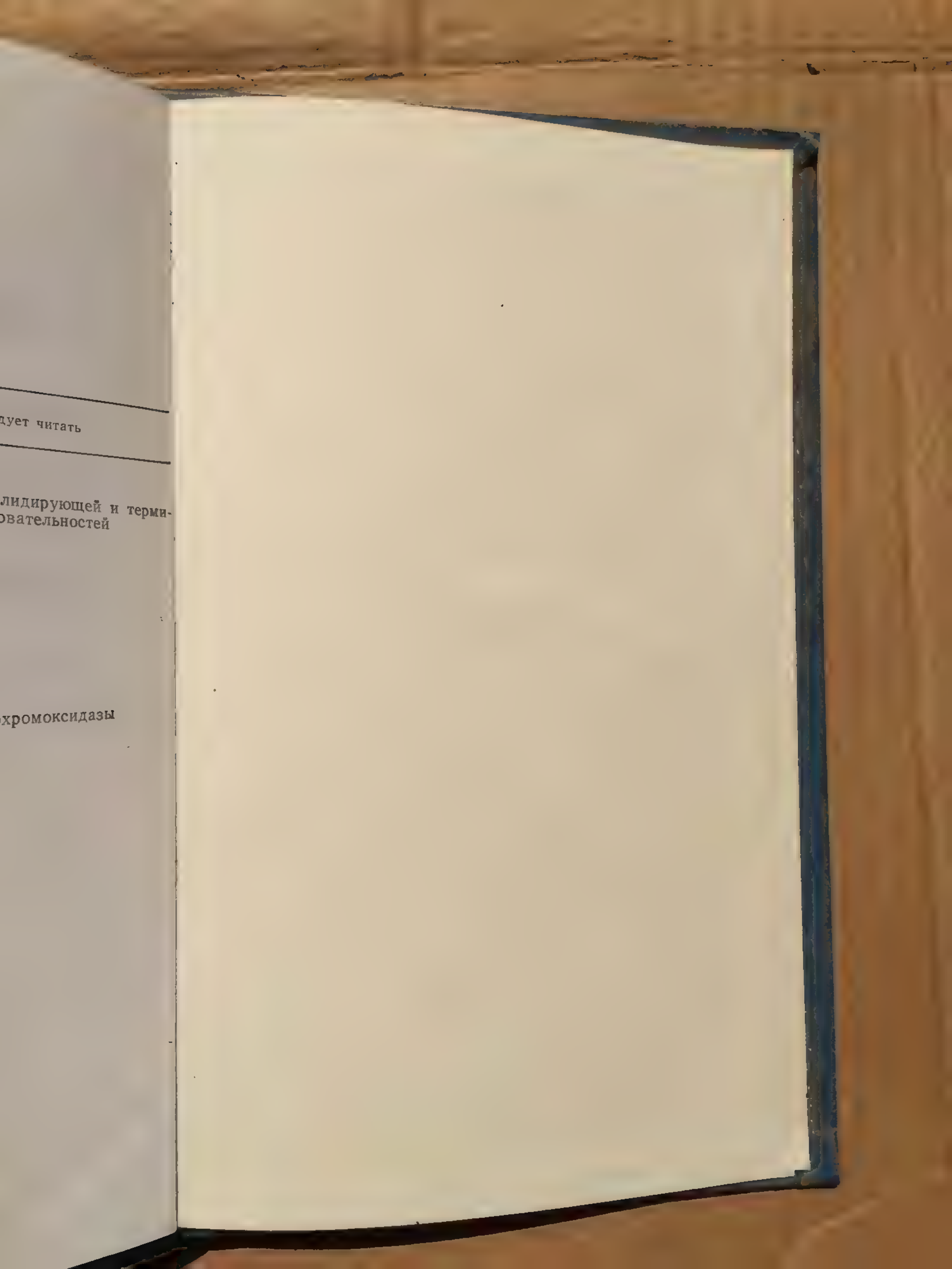
Сдано в набор 17.VIII.89 г. Подписано к печати 6.XII.89 г. Формат 60×90[1]/16. Бумага типографская № 1. Печать высокая. Гарнитура литературная. Объем 20,50 бум. л. Усл. печ. л. 41. Усл. кр.-отт. 41,00. Уч.-изд. л. 43,66. Изд. № 4/6480. Тираж 17 000 экз. Зак. 1128. Цена 3 р. 50 к.

Издательство «Мир» В/О «Совэкспорткнига» Государственного комитета СССР по печати. 129820, ГСП, Москва, 1-й Рижский пер., 2.

Московская типография № 11 Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по печати. 113105, Москва, Нагатинская ул., д. 1.

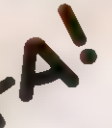
Список замеченных опечаток

Напечатано	Следует читать
Рис. 1—2. Компекс	Комплекс
Рис. 2—1. Соединение лидирующей и терминальной последовательностей	Присоединение лидирующей и терминальной последовательностей
Рис. 2—2 1872 п. н.	1872 н.
Рис. 8—3 Н-У-антигены	Н-У-антиген
Рис. 10—4 ТПГ+рецептор	ТРГ+рецептор
Рис. 10—7 rT_3	pT_3
Рис. 10—8 Концентрация цитохромоксидазы	Активность цитохромоксидазы
Рис. 14—8 Гипотезия	Гипотензия
Рис. 16—1 Умеренной	Умеренное


дует читать
лидирующей и терми-
овательностей
хромоксидазы


ЧЕТЫРЕ СЕЗОНА
25 см
В ПОДАРОК
при заказе от 515 ₽
Промокод
8909
4
РАЗНЫХ ВКУСА




ДОДО
ПИЦЦА-А-А-А-А-А!
Google Play
App Store
dodopizza.ru

ТОЛЬКО В ПИЦЦЕРИИ

2 КУСКА ПИЦЦЫ + НАПИТОК

169 ₽



ДОДО ПИЦЦА-А-А-А-А-А!

Google Play

App Store

dodopizza.ru

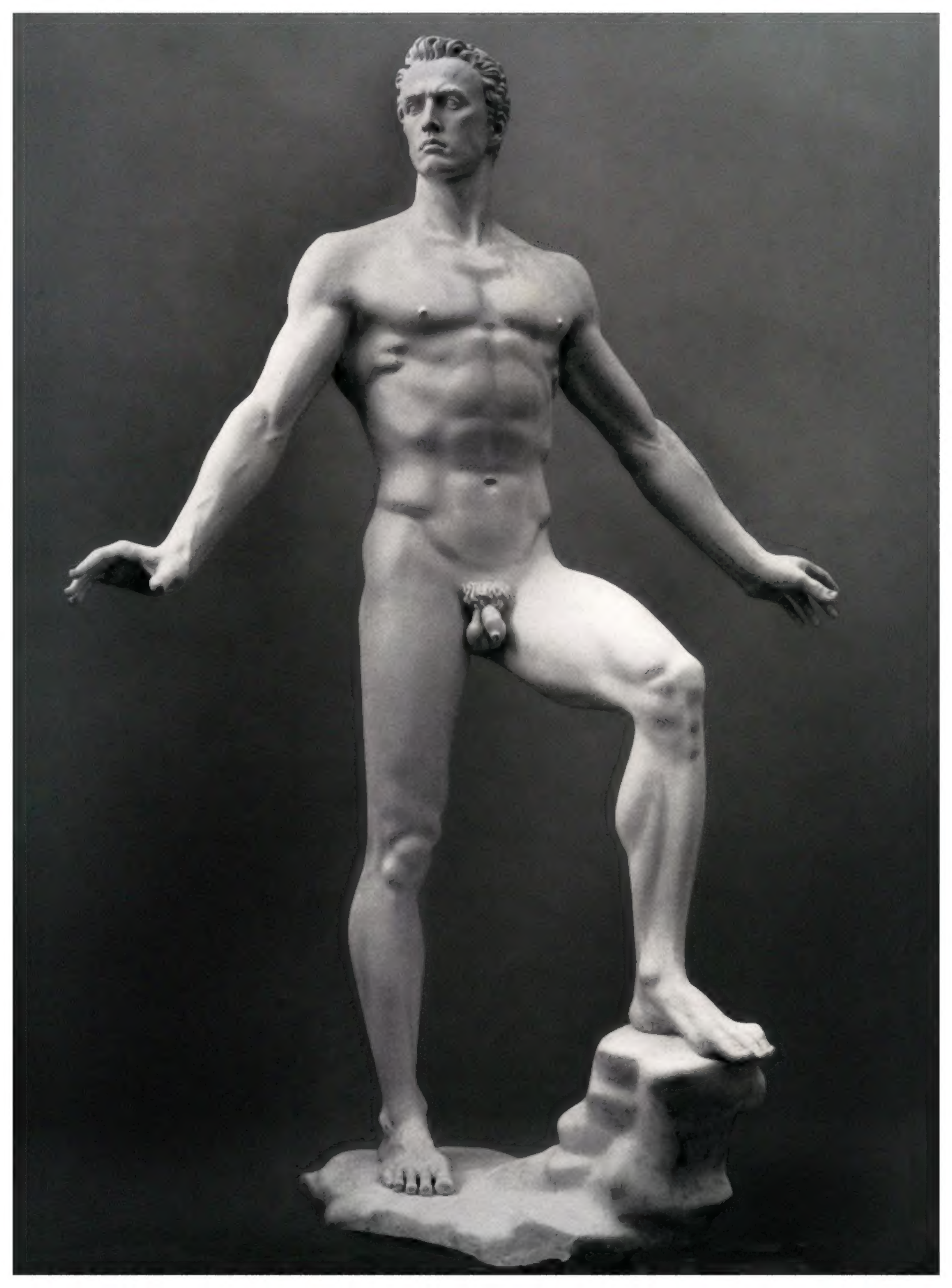




Дж. Теппермен
Х. Теппермен

Физиология обмена веществ
и эндокринной системы


PIC•COLLAGE







ARNO BREKER:
Psyche – Psyche – Psyché (1941).

